



Facultad de Medicina
Departamento de Farmacología y Terapéutica

**ESTUDIO DE LA CONTRIBUCIÓN DE LOS
FACTORES GENÉTICOS A LA VARIABILIDAD
FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA DE
LOS INHIBIDORES DE LA HMG-CoA REDUCTASA
EN VOLUNTARIOS SANOS**

Tesis presentada para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía
por Don **RUBIN LUBOMIROV JRISTOV**

2010



Departamento de Farmacología y Terapéutica
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Madrid

Don **Jesús Frías Iniesta**, Catedrático del Departamento de Farmacología y Terapéutica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid y,
Don **Antonio Carcas Sansuán**, Profesor titular del Departamento de Farmacología y Terapéutica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid,

CERTIFICAN:

Que Don **Rubín Lubomirov Jristov**, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo de investigación "**ESTUDIO DE LA CONTRIBUCIÓN DE LOS FACTORES GENÉTICOS A LA VARIABILIDAD FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA DE LOS INHIBIDORES DE LA HMG-CoA REDUCTASA EN VOLUNTARIOS SANOS.**" con objeto de obtener el Grado de Doctor.

Como directores del trabajo hacemos constar que ha sido realizado con todas las garantías técnicas y metodológicas, y que las conclusiones obtenidas son plenamente válidas, siendo considerado, por tanto, apto para ser presentado como Tesis Doctoral.

En Madrid, a veintinueve de enero de dos mil diez.

Fdo.: **Prof. Jesús Frías Iniesta**

Fdo.: **Prof. Antonio Carcas Sansuán**

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento y dar las gracias a todas aquellas personas que han contribuido de alguna manera a la realización de este trabajo de Tesis, en particular:

A mis Tutores el Profesor Jesús Frías Iniesta y el Profesor Antonio Carcas Sansuán por el esfuerzo y dedicación que han empleado en mi formación, no solo en la transferencia del conocimiento científico, sino también en la transmisión de valores, actitudes y aptitudes vitales.

Al personal docente e investigador del Departamento de Farmacología y Terapéutica de esta Facultad, por su asistencia científica y humana en la elaboración de esta Tesis.

A los miembros del Centro de Farmacología Clínica de la UAM, en especial a Beatriz Tabarés y a Blanca Duque por su contribución en la extracción de ADN de las muestras de sangre de los voluntarios sanos, así como también a Olga Laosa, Dolores Ochoa, Pilar Ayllon, Amelia Baeza, Elena Ramírez y Pedro Guerra todos grandes compañeros y amigos durante estos años.

A toda la gente del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital La Paz de Madrid por el buen trato recibido durante todo este tiempo.

A todos los voluntarios, sin cuya participación desinteresada hubiera sido imposible la realización de la presente Tesis.

A mi familia y amigos, en particular a mis padres y hermanos, cuyo apoyo incondicional ha sido muy importante para mí durante todo este tiempo.

Y como no, a Vesela, la persona que ha sido mi apoyo y sustento en todos estos años. Por su infinita paciencia durante los largos ratos que la redacción de la presente Tesis me ha privado de su compañía.

FINANCIACIÓN

Los trabajos contenidos en la presente Tesis han sido financiados por el proyecto FIS del Instituto Carlos III (Expediente *PI03/0213*).

Durante parte de la realización de la Tesis el candidato ha sido beneficiario de un contrato de formación en investigación para profesionales médicos con formación sanitaria especializada (Expediente *CM04/0157*) de tres años de duración cofinanciado por el Instituto Carlos III y el Hospital Universitario La Paz de Madrid.

*"Lo que puedas hacer o pensar que puedes hacer, empiézalo.
Porque la osadía contiene magia, poder y genialidad."*

Goethe

*"Descubrir consiste en ver lo que todo el mundo ha visto
y pensar lo que nadie ha pensado."*

A. von Sent-Györgyi

*"El conocimiento es finito, lo desconocido infinito;
intelectualmente pertenecemos a una isla en medio de un inabarcable océano de
inexplicabilidad. Nuestra ocupación en cada generación es reclamar un poco más de
tierra."*

Thomas H. Huxley

*"Solo la ciencia es noticia; lo demás es cotilleo. La ciencia es lo único noticiable.
Cuando uno hojea un periódico o una revista, todos los contenidos de interés
humano son el mismo él-dijo-ella-dijo de siempre, la política y la economía los
mismos lastimosos dramas cíclicos, las modas una patética ilusión de novedad, y
hasta la tecnología es previsible si uno sabe algo de ciencia. La naturaleza humana
no cambia demasiado; la ciencia sí, y los cambios se acumulan alterando el mundo
de manera irreversible."*

Stewart Brand

*A mi mujer y a mis padres,
porque ellos me han hecho soñar...*

Resumen	xxi
Abreviaturas	xxiii
ÍNDICE DE TABLAS	xxv
ÍNDICE DE FIGURAS	xxvii
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1.- Descubrimiento y desarrollo	2
1.2.- Estructura y propiedades físico-químicas	10
1.2.1.- Estructura química	10
1.2.2.- Propiedades físico-químicas	12
1.3.- Perfil ADME y farmacocinética	15
1.3.1.- Perfil ADME	15
1.3.1.1.- Absorción intestinal	18
1.3.1.2.- Distribución	18
1.3.1.3.- Metabolismo	18
1.3.1.4.- Eliminación	31
1.3.2.- Farmacocinética	32
1.3.2.1.- Absorción intestinal	32
1.3.2.2.- Modelo farmacocinético de las estatinas basado en datos fisiológicos (PBPK)	32
1.3.2.3.- Transportadores de estatinas	39
1.4.- Farmacodinamia o mecanismo de acción	48

1.4.1.- Efecto hipolipemiante	48
1.4.2.- Efectos pleiotrópicos	50
1.5.- Relación dosis-respuesta terapéutica y toxicidad	51
1.5.1.- Dosis-respuesta del efecto hipolipemiante de las estatinas	51
1.5.2.- Dosis-respuesta de la miotoxicidad por estatinas	54
1.6.- Ensayos clínicos con estatinas: eficacia y toxicidad	55
1.6.1.- Eficacia de las estatinas en la reducción del riesgo de cardiopatía isquémica, riesgo cardiovascular global y mortalidad	55
1.6.2.- Riesgos asociados al uso de estatinas	56
1.7.- Diferencias entre sexos	58
1.7.1.- Diferencias entre sexos en la farmacocinética de las estatinas	60
1.7.2.- Diferencias entre sexos en la farmacodinamia de las estatinas	65
1.7.2.1.- Diferencias en la eficacia terapéutica	65
1.7.2.2.- Diferencias en la toxicidad	66
1.8.- Estudios farmacogenéticos con estatinas	68
1.8.1.- Lovastatina	70
1.8.2.- Simvastatina	73
1.8.3.- Pravastatina	81
1.8.4.- Fluvastatina	93
1.8.5.- Atorvastatina	98
1.8.6.- Cerivastatina	104
1.8.7.- Pitavastatina	105
1.8.8.- Rosuvastatina	105
1.8.9.- Varias estatinas	106
1.9.- Epístasis	112

1.10.- Ensayos de bioequivalencia	116
2 OBJETIVOS	123
2.1.- Objetivos generales	123
2.2.- Objetivos específicos	123
3 MATERIAL Y MÉTODOS	125
3.1.- Población de estudio	125
3.1.1.- Criterios de selección de los participantes	125
3.1.2.- Voluntarios que han participado en más de un ensayo clínico de bioequivalencia.	126
3.2.- Análisis genotípico	128
3.2.1.- Criterios de selección de los genes y polimorfismos en estudio	128
3.2.2.- Obtención de las muestras para el análisis genotípico	138
3.2.3.- Extracción del ADN genómico	139
3.2.4.- Técnica de genotipado	139
3.3.- Análisis cinético	148
3.3.1.- Criterios de selección de los ensayos de bioequivalencia incluidos en el análisis	148
3.3.2.- Diseño de los estudios de bioequivalencia	148
3.3.3.- Método analítico	150
3.3.4.- Análisis farmacocinético	152
3.4.- Análisis estadístico	155
3.4.1.- Cálculo de las frecuencias alélicas y genotípicas	155
3.4.2.- Modelos lineales mixtos de medidas repetidas (LMMR)	157
3.4.2.1.- Modelo 1: efecto formulación, periodo o secuencia	158
3.4.2.2.- Modelo 2: diferencias entre sexos	160
3.4.2.3.- Modelo 3: diferencias entre genotipos	162

3.4.2.4.- Modelo 4: interacción entre sexo y genotipos	164
3.4.3.- Modelos de regresión lineal múltiple (RLM)	166
3.4.3.1.- Variables farmacocinéticas	167
3.4.3.2.- Variables farmacodinámicas (eficacia hipolipemiente)	168
3.4.4.-Análisis de la presencia de epístasis: el método GMDR	169
3.4.4.1.- Variables farmacocinéticas	172
3.4.4.2.- Variables farmacodinámicas (eficacia hipolipemiente)	172
4. RESULTADOS	173
4.1.- Características demográficas de los participantes	173
4.2.- Frecuencias genotípicas y alélicas	176
4.2.1.- Cumplimiento del equilibrio de Hardy-Weinberg	176
4.2.2.- Frecuencias genotípicas y alélicas	178
4.2.2.1.- Comparación con las poblaciones del Proyecto HapMap	178
4.2.2.2.- Comparación con otras poblaciones españolas	187
4.2.2.3.- Comparación con las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA)	191
4.2.2.4.- Comparación entre hombres y mujeres	191
4.3.- Análisis de las variables farmacocinéticas con modelos lineales mixtos de medidas repetidas (LMMR)	198
4.3.1.- Modelo 1: Análisis de bioequivalencia	198
4.3.1.1.- Pravastatina	198
4.3.1.2.- Simvastatina	198
4.3.1.3.- Lovastatina	199
4.3.2.- Modelo 2: Análisis de las diferencias entre sexos	200
4.3.2.1.- Pravastatina	200
4.3.2.2.- Simvastatina	202

4.3.2.3.- Lovastatina	206
4.3.3.- Modelo 3: Análisis de las diferencias entre los genotipos de los 15 SNPs	210
4.3.3.1.- Pravastatina	210
4.3.3.2.- Simvastatina	214
4.3.3.3.- Lovastatina	218
4.3.4.- Modelo 4: Análisis de la interacción entre sexo y SNPs	223
4.3.4.1.- Pravastatina	223
4.3.4.2.- Simvastatina	223
4.3.4.3.- Lovastatina	229
4.4.- Análisis de las variables farmacocinéticas y farmacodinámicas con modelos de regresión lineal multivariante (RLM)	229
4.4.1.- Variables farmacocinéticas	229
4.4.1.1.- Pravastatina	229
4.4.1.2.- Simvastatina	233
4.4.1.3.- Lovastatina	237
4.4.2.- Variables farmacodinámicas (eficacia hipolipemiante)	242
4.4.2.1.- Pravastatina	250
4.4.2.2.- Simvastatina	252
4.4.2.3.- Lovastatina	254
4.5.- Análisis de la presencia de epístasis en los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos de lovastatina (3-LOVs)	256
4.5.1.- Variables farmacocinéticas	257
4.5.2.- Variables farmacodinámicas (eficacia hipolipemiante)	267
4.6.- Resumen de resultados	270
5 DISCUSIÓN	273
5.1.- Frecuencias genotípicas y alélicas	273

5.1.1.- Comparación con la población de caucasianos del Proyecto HapMap	274
5.1.2.- Comparación con otras poblaciones españolas	275
5.1.3.- Comparación con las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA)	276
5.1.4.- Comparación entre hombres y mujeres	276
5.2.- Análisis de las variables farmacocinéticas	279
5.2.1.- Diferencias entre sexos	279
5.2.1.1.- Lovastatina	280
5.2.1.2.- Simvastatina	283
5.2.1.3.- Pravastatina	286
5.2.2.- Diferencias entre genotipos	288
5.2.3.- Interacción entre sexo y SNPs	307
5.3.- Análisis del efecto de los polimorfismos genéticos sobre la reducción de colesterol total	310
5.4.- Interacciones epistáticas	316
5.4.1.- Epístasis en las variables cinéticas de lovastatina	317
5.4.2.- Epístasis en la respuesta hipolipemiente a lovastatina	318
5.5.- Limitaciones del estudio	321
5.6.- Implicaciones clínicas	322
6 CONCLUSIONES	325
7 BIBLIOGRAFÍA	329
ANEXOS	A1
Anexo 1	A1
A1.1.- AUC de los 5 ensayos clínicos de bioequivalencia de las estatinas pravastatina, simvastatina y lovastatina	A2
A1.2.- Sintaxis para SPSS 15.0 de los modelos lineales mixtos de medidas repetidas (LMMR) y los de regresión lineal multivariante (RLM)	A5
Anexo 2	A27

A2.1.- Comparación de los individuos con genotipo válido entre la población de estudio (CFC-ESP) y la caucasiana de HapMap (HapMap-CEU) y entre hombres y mujeres en CFC-ESP, 3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA	A28
A2.2.- Variables farmacocinéticas de pravastatina (91-PRA), simvastatina (84-SIM) y lovastatina (3-LOVs)	A33
A2.3.- Diagramas de caja de los polimorfismos sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en las variables cinéticas de pravastatina (91-PRA), simvastatina (84-SIM) y lovastatina (3-LOVs) predichas por el modelo 3	A35
A2.4.- Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado para el MR _t del hidroxiácido de lovastatina (3-LOVs)	A51
Anexo 3	A79

RESUMEN

Introducción: La respuesta terapéutica a un tratamiento farmacológico presenta una gran variabilidad interindividual. A pesar de la importancia de los factores ambientales cada vez se presta más atención a los polimorfismos genéticos en enzimas metabolizadoras y transportadores responsables de diferencias en el metabolismo y la disposición de los fármacos, ya que pueden tener una repercusión importante sobre su eficacia y seguridad.

Objetivos:

Los objetivos principales fueron determinar la contribución del polimorfismo genético en las enzimas metabolizadoras, transportadores de fármacos y receptores nucleares a la variabilidad en los parámetros farmacocinéticos de lovastatina, simvastatina y pravastatina en una población de voluntarios sanos españoles y de la presencia de diferencias entre sexos.

Los objetivos secundarios fueron la realización de un análisis exploratorio la contribución de los mismos polimorfismos genéticos a la variabilidad en el parámetro farmacodinámico de reducción de los niveles de colesterol total, el análisis de la existencia de diferencias en la cinética en función del sexo, la obtención de datos sobre la distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas y su comparación con las de otras poblaciones, y por último, la detección de la presencia de interacciones epistáticas.

Diseño:

Hemos analizado de forma retrospectiva los genotipos de 17 polimorfismos en 10 genes (*CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP1A2*, *PON3*, *CES2*, *ABCB1*, *SLCO1B1*, *NR1I2*, *NR1I3* y *GNB3*) en 207 voluntarios sanos participantes en estudios de bioequivalencia. Para el análisis del impacto de estos polimorfismos y de las diferencias entre sexos hemos utilizado varios modelos lineales mixtos de medidas repetidas al igual que modelos de regresión lineal multivariante. La detección de interacciones epistáticas se realizó con el método GMDR.

Resultados:

Las frecuencias genotípicas y alélicas de los 15 polimorfismos en 9 genes encontradas en la población de voluntarios sanos españoles estudiada son similares a las halladas en los caucasianos de origen centroeuropeo del Proyecto HapMap y en otras poblaciones caucásicas. Las frecuencias genotípicas y alélicas de los dos polimorfismos del gen *CYP3A4* investigados no pudieron ser comparadas al resultar monomórficos en nuestra población.

Las diferencias observadas a favor de las mujeres en las variables farmacocinéticas de pravastatina y simvastatina son debidas a la mayor cantidad de dosis por unidad

de peso corporal recibida por las mujeres dado su menor peso corporal. En cambio, las diferencias observadas entre hombres y mujeres en la C_{max} , el AUC_t y el aclaramiento aparente de lovastatina no son explicables por las diferencias entre sexos en el peso corporal. La C_{max} y el AUC_t ajustados por la dosis recibida por unidad de peso corporal son más altos en los hombres y el aclaramiento aparente es más alto en las mujeres.

Los polimorfismos en el gen del transportador *SLCO1B1* son los que presentaron el mayor impacto sobre la cinética de las estatinas. La variante alélica *SLCO1B1**5 del gen *SLCO1B1* se asoció a un incremento clínicamente relevante en la disposición del hidroxiácido de simvastatina, en la del hidroxiácido de lovastatina y en la de pravastatina. En cambio, la variante alélica *SLCO1B1**1b del mismo gen se asoció a un descenso en la disposición sólo de pravastatina.

Varios polimorfismos en los genes *CES2*, *NR1I2* y *GNB3* fueron asociados a una menor respuesta hipolipemiente a pravastatina y lovastatina. El análisis de la presencia de interacciones epistáticas en las variables cinéticas y de respuesta hipolipemiente a lovastatina reveló la presencia de complejas redes modulares de interacción entre varios genes.

Conclusiones:

Las diferencias entre sexos en las variables cinéticas de lovastatina son intrínsecas a la condición de ser hombre o mujer. La variante alélica *SLCO1B1**5 se asocia a un incremento clínicamente relevante en la disposición de simvastatina, lovastatina y pravastatina que podría guiar la determinación de dosis máximas recomendadas en función del genotipo con el objetivo de reducir el riesgo de toxicidad. El impacto de los polimorfismos de los genes *CES2*, *NR1I2* y *GNB3* sobre la eficacia hipolipemiente de las estatinas necesita ser replicado en estudios prospectivos con pacientes.

Palabras clave: farmacogenética, estatinas, voluntarios sanos, diferencias entre sexos

ABREVIATURAS

3-LOV	La población de 100 voluntarios sanos (51 hombres y 49 mujeres) que participaron en los tres ensayo clínicos (73-LOV, 78-LOV y 92-LOV) de bioequivalencia con lovastatina
84-SIM	Ensayo clínico de bioequivalencia con simvastatina en el que participaron 36 voluntarios sanos (18 hombres y 18 mujeres)
91-PRA	Ensayo clínico de bioequivalencia con pravastatina en el que participaron 36 voluntarios sanos (18 hombres y 18 mujeres)
ADME	Abreviatura de absorción, distribución, metabolismo y eliminación
ATO	Atorvastatina
AUC_t	Área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas versus el tiempo
AUC_t_dp	AUC _t ajustada por los mg de dosis administrada por kg de peso corporal
AUC_t_dp_t	AUC _t _dp "total" resultado de la suma de los valores correspondiente a las formulaciones test y referencia
AUC_t_p	AUC _t ajustada por el peso corporal
AUC_t_p70	AUC _t ajustada por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg
CER	Cerivastatina
CFC-ESP	La población de 207 voluntarios sanos españoles que han participados en ensayos clínicos de bioequivalencia en la Unidad de Ensayos del Centro de Farmacología Clínica de la UAM y que constituyen nuestra población de estudio
CI/F	Aclaramiento aparente calculado con la fórmula $CI/F = \text{Dosis}/AUC_t$
CI/F_t	Aclaramiento aparente "total" resultado de la suma de los valores correspondiente a las formulaciones test y referencia
C_{max}	Concentración plasmática máxima
C_{max}_dp	C _{max} ajustada por los mg de dosis administrada por kg de peso corporal
C_{max}_dp_t	C _{max} _dp "total" resultado de la suma de los valores correspondiente a las formulaciones test y referencia
C_{max}_p	C _{max} ajustada por el peso corporal
C_{max}_p70	C _{max} ajustada por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg
CT	Colesterol total
FLU	Fluvastatina
GMDR	Modelo de la reducción generalizada de la dimensionalidad multifactorial (" <i>Generalized Multifactor Dimensionality Reduction</i> ") diseñado para la detección de interacciones epistáticas
HapMap-CEU	Población de caucasianos norteamericanos de origen centroeuropeo del Proyecto HapMap
HapMap-HBC	Población de chinos Han de Beijín del Proyecto HapMap
HapMap-JPT	Población de japoneses de Tokio del Proyecto HapMap
HapMap-Yri	Población de africanos Yorubas de Nigeria del Proyecto HapMap
IC95%	Intervalo de confianza al 95%
LMMR	Modelo lineal mixto de medidas repetidas
LOV	Lovastatina
MR	Cociente metabólico o "metabolic ratio" que se calcula mediante la fórmula $MR = AUC_t \text{ hidroxilado}/AUC_t \text{ lactona}$
MR_t	MR "total" resultado de la suma de los valores correspondiente a las formulaciones test y referencia

OHAc	Hidroxiácido
PIT	Pitavastatina
PRA	Pravastatina
RLM	Modelo de regresión lineal multivariante
ROS	Rosuvastatina
SIM	Simvastatina
t_{1/2}	Vida media de eliminación
TG	Triglicéridos
T_{max}	Tiempo en el que se alcanza la C _{max}
ΔCT	Cambio en los niveles de colesterol total respecto a los valores basales

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1	Estatinas aprobadas para uso humano	10
Tabla 1.2	Propiedades físico-químicas de las estatinas	14
Tabla 1.3	Parámetros farmacocinéticos de los hidroxiácidos y lactonas de las estatinas ...	17
Tabla 1.4	Transportadores de los que las estatinas son sustratos o inhibidores	40
Tabla 1.5	IC ₅₀ de las estatinas	50
Tabla 1.6	Descensos de LDL con dosis equivalentes de estatinas	52
Tabla 1.7	Descensos de colesterol total con dosis equivalentes de estatinas	52
Tabla 1.8	Diferencias anatómicas entre hombres y mujeres	59
Tabla 3.1	Ensayos de bioequivalencia y número de voluntarios que forman parte de la población de estudio (CFC-ESP)	125
Tabla 3.2	Voluntarios de la población de estudio (CFC-ESP) que han participado en más de uno de los 7 ensayos clínicos incluidos	127
Tabla 3.3	Voluntarios que han participado en más de un ensayo clínico con lovastatina	128
Tabla 3.4	Genes y sus polimorfismos investigados en el estudio farmacogenético	138
Tabla 3.5	Códigos de identificación de los ensayos TaqMan® utilizados para el genotipado de los 17 SNPs	140
Tabla 3.6	Procedimientos comunes a los 7 ensayos clínicos	149
Tabla 3.7	Plan general de extracciones de los 5 ensayos de bioequivalencia con estatinas	151
Tabla 3.8	Método analítico y límites de cuantificación	152
Tabla 4.1	Características demográficas de las poblaciones de estudio	174
Tabla 4.2	Análisis del cumplimiento del equilibrio de Hardy-Weinberg por los 15 SNP genotipados	176
Tabla 4.3	Frecuencias genotípicas y alélicas de los 15 SNPs en la población de estudio (CFC-ESP) y las cuatro poblaciones del Proyecto HapMap	180
Tabla 4.4	Valores <i>P</i> de la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas entre los voluntarios del CFC-ESP con las de las cuatro poblaciones del Proyecto HapMap	185
Tabla 4.5	Frecuencias genotípicas y alélicas de los 5 SNPs en la población de estudio (CFC-ESP) y en varias poblaciones españolas	188
Tabla 4.6	Valores <i>P</i> de la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas entre los voluntarios del CFC-ESP con las distintas poblaciones españolas	190

Tabla 4.7	Frecuencias genotípicas y alélicas de los 15 SNPs en ambos sexos de la población de estudio (CFC-ESP) y de las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA)	192
Tabla 4.8	Valores <i>P</i> de la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas entre hombres y mujeres	197
Tabla 4.9	Magnitud de las diferencias entre hombres y mujeres en las variables cinéticas de pravastatina (91-PRA) predichas por el modelo 2	202
Tabla 4.10	Magnitud de las diferencias entre hombres y mujeres en las variables cinéticas de simvastatina (84-SIM) predichas por el modelo 2	204
Tabla 4.11	Magnitud de las diferencias entre hombres y mujeres en las variables cinéticas de lovastatina (3-LOVs) predichas por el modelo 2	208
Tabla 4.12	Magnitud de las diferencias entre los genotipos de los 4 SNPs con diferencias estadísticamente significativas en al menos una de las variables cinéticas de pravastatina (91-PRA) predichas por el modelo 3.	212
Tabla 4.13	Magnitud de las diferencias entre los genotipos de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas en al menos una de las variables cinéticas de simvastatina (84-SIM) predichas por el modelo 3	216
Tabla 4.14	Magnitud de las diferencias entre los genotipos de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas en al menos una de las variables cinéticas de lovastatina (3-LOVs) predichas por el modelo 3	221
Tabla 4.15	Modelo de RLM para las variables farmacocinéticas en el estudio 91-PRA	230
Tabla 4.16	Modelo de RLM para las variables farmacocinéticas en el estudio 84-SIM	234
Tabla 4.17	Modelo de RLM para las variables farmacocinéticas en el estudio 3-LOVs	238
Tabla 4.18	Diferencias en los niveles basales y cambio en el colesterol total y los triglicéridos según el fármaco en la población de estudio (CFC-ESP)	245
Tabla 4.19	Diferencias en los niveles basales y cambio en el colesterol total y los triglicéridos según el sexo en la población de estudio (CFC-ESP)	246
Tabla 4.20	Diferencias en los niveles basales y cambio en el colesterol total y los triglicéridos según el sexo en los tres estudios con estatinas	247
Tabla 4.21	Modelo de la RLM para el cambio en los niveles de colesterol total en el estudio 91-PRA	251
Tabla 4.22	Modelo de la RLM para el cambio en los niveles de colesterol total en el estudio 84-SIM	253
Tabla 4.23	Modelo de la RLM para el cambio en los niveles de colesterol total en el estudio 3-LOVs	255
Tabla 4.24	Comparación del porcentaje de excluidos por genotipo indeterminado en algún SNP entre ambos sexos de la población 3-LOVs (n=100) utilizada para la detección de epístasis.	256
Tabla 4.25	Modelos de epístasis para las variables farmacocinéticas de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89) identificados con el método GMDR	258
Tabla 4.26	Modelos de epístasis para el cambio en los niveles de colesterol total (mg/dl) en el estudio 3-LOVs (n=89) identificados con el método GMDR	268
Tabla 4.27	Resumen de resultados del análisis farmacogenético de variables cinéticas y de respuesta hipolipemiente	270
Tabla 5.1	Impacto del <i>SLCO1B1</i> *5 sobre el AUC _t de las estatinas	291

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Hongos productores de las primeras estatinas.	7
Figura 1.2	Hitos históricos en el descubrimiento y desarrollo de las estatinas.	8
Figura 1.3	Estructura química de las estatinas.	11
Figura 1.4	Perfil ADME de las estatinas	16
Figura 1.5	Vías metabólicas y de interconversión lactona-hidroxiácido comunes de las estatinas	19
Figura 1.6	Principales vías metabólicas de la lovastatina	22
Figura 1.7	Principales vías metabólicas de la simvastatina.	23
Figura 1.8	Principales vías metabólicas de la pravastatina	24
Figura 1.9	Principales vías metabólicas de la fluvastatina	26
Figura 1.10	Principales vías metabólicas de la atorvastatina	27
Figura 1.11	Principales vías metabólicas de la cerivastatina	28
Figura 1.12	Principales vías metabólicas de la pitavastatina	29
Figura 1.13	Principales vías metabólicas de la rosuvastatina	31
Figura 1.14	Modelo farmacocinético basado en datos fisiológicos (PBPK) de las estatinas	34
Figura 1.15	Localización de los principales transportadores de fármacos	38
Figura 1.16	Estructura 3D de la HMG-CoA reductasa humana	49
Figura 1.17	Relación dosis-respuesta en la monoterapia con estatinas	53
Figura 1.18	Relación entre la reducción de la cifra de colesterol-LDL al año del inicio del tratamiento con estatinas y el porcentaje de reducción en los eventos cardiovasculares mayores	57
Figura 1.19	Estudios farmacogenéticos en pacientes con hipercolesterolemia familiar	70
Figura 1.20	Estudios farmacogenéticos de genes ADME en voluntarios sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria	72
Figura 1.21	Estudios farmacogenéticos de genes de dianas terapéuticas en pacientes con hipercolesterolemia primaria	75
Figura 1.22	Estudios farmacogenéticos de genes de la red fisiopatológica de la aterosclerosis en pacientes con hipercolesterolemia primaria	78
Figura 1.23	Epístasis biológica y estadística	112

Figura 1.24	Diseño de un estudio de bioequivalencia clásico, cruzado de 2 periodos y 2 secuencias.	118
Figura 3.1	Las tres fases en el proceso de genotipado con tecnología TaqMan®	142
Figura 3.2	Representación esquemática del proceso de genotipado de un portador homocigoto "CC" de un SNP C>T	144
Figura 3.3	Representación esquemática del proceso de genotipado de un portador heterocigoto "CT" de un SNP C>T	145
Figura 3.4	Representación esquemática del proceso de genotipado de un portador homocigoto "TT" de un SNP C>T	146
Figura 3.5	Gráfica de discriminación alélica del SNP2 (rs2307424, C>T)	147
Figura 3.6	Esquema general del análisis estadístico	154
Figura 3.7	Estructura jerarquizada de las variables independientes utilizadas en los cuatro modelos LMMR	159
Figura 3.8	Descripción de las variables cinéticas dependientes y los factores de los cuatro modelos LMMR para 91-PRA	161
Figura 3.9	Descripción de las variables cinéticas dependientes y los factores de los cuatro modelos LMMR para 84-SIM	163
Figura 3.10	Descripción de las variables cinéticas dependientes y los factores de los cuatro modelos LMMR para 3-LOVs	165
Figura 3.11	Esquema de la implementación del método GMDR para la detección de epístasis	170
Figura 4.1	Diagramas de caja de la dosis de estatina (LOV, SIM y PRA) recibida ajustada por el peso en hombres y mujeres	175
Figura 4.2	Diagrama de De Finetti para el SNP12 y 13 para ambos sexos (CFC-ESP, n=207)	177
Figura 4.3	Diagramas de caja de las variables cinéticas de pravastatina (91-PRA) en hombres (n=18) y mujeres (n=18) predichas por el modelo 2	201
Figura 4.4	Diagramas de caja de las variables cinéticas de simvastatina (84-SIM) en hombres (n=18) y mujeres (n=18) predichas por el modelo 2	203
Figura 4.5	Diagramas de caja de las variables cinéticas del hidroxiácido (OHAc) de simvastatina (84-SIM) en hombres (n=18) y mujeres (n=18) predichas por el modelo 2	205
Figura 4.6	Diagramas de caja de las variables cinéticas de lovastatina (3-LOVs) en hombres (n=51) y mujeres (n=49) predichas por el modelo 2	207
Figura 4.7	Diagramas de caja de las variables cinéticas del hidroxiácido (OHAc) de lovastatina (3-LOVs) en hombres (n=51) y mujeres (n=49) predichas por el modelo 2	209
Figura 4.8	Diagramas de caja de los 4 SNPs con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las variables cinéticas de pravastatina (91-PRA) predichas por el modelo 3	211
Figura 4.9	Diagramas de caja de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las variables cinéticas de simvastatina (84-SIM) predichas por el modelo 3	215
Figura 4.10	Diagramas de caja de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las variables cinéticas del hidroxiácido (OHAc) de simvastatina (84-SIM) predichas por el modelo 3	217

Figura 4.11	Diagramas de caja de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las variables cinéticas de lovastatina (3-LOVs) predichas por el modelo 3	220
Figura 4.12	Diagramas de caja de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las variables cinéticas del hidroxiácido (OHAc) de lovastatina (3-LOVs) predichas por el modelo 3	222
Figura 4.13	Representación gráfica de la interacción entre sexo y el SNP15 para la $t_{1/2}$ de pravastatina (91-PRA) detectada con el modelo 4	224
Figura 4.14	Representación gráfica de la interacción entre sexo y el SNP9 para el AUC _t y el CI/F de simvastatina (84-SIM) detectadas con el modelo 4	225
Figura 4.15	Representación gráfica de las interacciones entre sexo y el SNP11 para el AUC _t y el CI/F de simvastatina (84-SIM) detectadas con el modelo 4	227
Figura 4.16	Representación gráfica de las interacciones entre sexo y el SNP13 para la OHAc-Cmax y el MR de simvastatina (84-SIM) detectadas con el modelo 4.	228
Figura 4.17	Diagramas de caja de los niveles basales y cambio en el colesterol total y los triglicéridos según el fármaco en la población de estudio (CFC-ESP)	244
Figura 4.18	Relación lineal entre el cambio en el colesterol total (CT) y sus niveles basales para cada una de las estatinas (91-PRA, 84-SIM y 3-LOVs, $R^2=0.417, 0.312, 0.226$, respectivamente)	249
Figura 4.19	Representación gráfica del mejor modelo de epístasis identificado (SNP8*SNP9*SNP12*SNP13) para la $C_{max_dp_t}$ del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89)	259
Figura 4.20	Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 2 SNPs identificado (SNP12*SNP13) para el AUC _t _{dp_t} del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89)	260
Figura 4.21	Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 3 SNPs identificado (SNP8*SNP12*SNP13) para el AUC _t _{dp_t} del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89)	261
Figura 4.22	Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 4 SNPs identificado (SNP1*SNP8*SNP12*SNP13) para el AUC _t _{dp_t} del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89)	262
Figura 4.23	Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 2 SNPs identificado (SNP8*SNP13) para el MR _t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89)	263
Figura 4.24	Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 3 SNPs identificado (SNP3*SNP12*SNP13) para el MR _t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89)	264
Figura 4.25	Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR _t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89)	265
Figura 4.26	Representación gráfica del mejor modelo de epístasis identificado (SNP2*SNP4) para el cambio en los niveles de colesterol total (mg/dl) en el estudio 3-LOVs (n=89)	268
Figura 5.1	Dosis máximas de estatina recomendadas para adultos de origen caucasiano en función del genotipo <i>SLCO1B1</i> *5	322

1 INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares continúan siendo la primera causa de muerte en los países occidentales y su prevalencia sigue aumentando en los países en vías de desarrollo. Esto las ha convertido desde el año 1990 en la primera causa de muerte en el mundo. En el año 2005 causaron 17.5 millones de muertes, lo que representa el 30% del total de muertes a nivel mundial. De estas, 7.6 millones fueron causadas por cardiopatía isquémica (CI) y 5.7 millones por enfermedades cerebrovasculares. Si la tendencia actual se mantiene se estima que a partir del año 2015 más de 20 millones de personas morirían cada año en el mundo a causa de enfermedad cardiovascular, principalmente CI e ictus. (Mackay y cols., 2004; WHO, 2008)

En España representan el 35% del total de muertes (30% en varones y 40% en mujeres). De ellas el 31% son debidas a CI y el 29% a ictus. Se calcula que estas enfermedades suponen el 8% del gasto sanitario anual, fundamentalmente por los costes de las hospitalizaciones y la pérdida de productividad. Son, así mismo, la tercera causa de años potenciales de vida perdidos, tras los casos de tumores y los accidentes de tráfico (Rodríguez Artalejo y cols., 2000; Lago Deibe y cols., 2004; Medrano Alberó y cols., 2006)

La base patogénica común a la mayoría de las enfermedades cardiovasculares, y entre ellas la CI, es la aterosclerosis. Se trata de un proceso multifactorial, en cuyo origen se implican al menos seis factores de riesgo: 1) la hipercolesterolemia, 2) la hipertensión arterial (HTA), 3) el tabaquismo, 4) la diabetes mellitus (DM), 5) el aumento de homocisteína y 6) el aumento de lipoproteína (a). No obstante, hasta un 25% de las personas con CI precoz no presentan ninguno de los factores de riesgo cardiovascular antes descritos, por lo que la ignorancia actual en este campo sigue siendo considerable.

La hipótesis lipídica de la aterosclerosis posee un soporte científico sólido que sostiene que el incremento del colesterol plasmático guarda relación directa con la aparición de la CI (Jacobs y cols., 1992). Por ello la hipercolesterolemia se considera uno de los factores de riesgo modificables más importante, al menos para el desarrollo de la CI (Neaton y cols., 1992).

Con el objetivo de reducir los niveles plasmáticos de colesterol a lo largo de la segunda mitad del siglo pasado se desarrolló todo un grupo terapéutico de

fármacos hipolipemiantes. Uno de sus subgrupos de mayor éxito lo componen los inhibidores de la 3-hidroximetil glutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, también llamados estatinas. Como subgrupo terapéutico, las estatinas, se caracterizan por su capacidad de reducir el colesterol LDL entre un 18 y un 55%, aumentar el colesterol HDL entre un 5 y un 15% y reducir los triglicéridos entre un 7 y un 30%.

Las estatinas son los únicos fármacos hipolipemiantes que han demostrado en ensayos clínicos que por cada 10% de reducción en los niveles plasmáticos de colesterol reducen la mortalidad por CI un 15% y la mortalidad total un 11%; sin que aumenten la mortalidad de causa no coronaria (Gould y cols., 1998).

Por eso no es de extrañar que su comercialización haya causado un impacto sin precedentes en el tratamiento farmacológico de las enfermedades cardiovasculares. Hasta mayo de 2001 (en sus 4 primeros años de comercialización) habían alcanzado los 500 millones de prescripciones sólo en Estados Unidos (Staffa y cols., 2002) y ya en el año 2004 como subgrupo terapéutico encabezaban la lista de los 200 fármacos más vendidos en el mundo con cerca de \$25.000 millones (1/5 del total de ventas) (Ansell, 2005). Desde entonces se han convertido en el subgrupo terapéutico más importante jamás vendido por la industria farmacéutica. Los dos fármacos más vendidos en el año 2004 fueron dos estatinas: la atorvastatina con \$12.000 millones y la simvastatina con \$5.900 millones (Ansell, 2005). En el año 2005 las ventas de estatinas en el mundo ya alcanzaban los \$40.000 millones (Kendrick, 2007).

1.1.- Descubrimiento y desarrollo

El colesterol es un componente esencial presente en todos los tejidos, ya que forma parte de la estructura de las membranas plasmáticas de las células eucariotas y es el precursor inmediato de una serie de sustancias esenciales tales como vitaminas, hormonas esteroideas y ácidos biliares. Es por ello por lo que todas las células de los seres vivos contienen colesterol o compuestos que se asemejan mucho a él, como el hopano y sus derivados, que reciben globalmente el nombre de hopanoides, y proceden de la misma molécula precursora, el escualeno. Estos hopanoides se han encontrado en bacterias y algunas plantas, así como en petróleos crudos y sedimentos de más de 500 millones de años, en proporciones relativamente altas, considerándose en la actualidad como las biomoléculas más abundantes del planeta. Tanto los hopanoides como el colesterol se forman mediante la ciclación del escualeno, pero mientras en el primer caso el proceso se realiza en ausencia de oxígeno, en el del colesterol requiere oxígeno molecular.

Debido a esta diferencia, el colesterol no apareció en la composición de los seres vivos hasta que la atmósfera fue aerobia, lo que justifica que su presencia se circunscriba a las células eucariotas, mientras que los procariotas disponen de los hopanoides.

El colesterol fue descubierto por primera vez por el bioquímico francés François Poulletier de la Salle en 1763. Al haberlo identificado en su forma sólida como constituyente de los cálculos biliares lo denominó colesterol que proviene del griego *chole-* (bilis), *stereos* (sólido) y el sufijo *-ol* al tratarse de un alcohol. Posteriormente fue redescubierto en la bilis por el químico francés Michel Eugène Chevreul en 1815 quién lo bautizó con el nombre de colestestina. Su presencia en la sangre fue descubierta por el farmacéutico francés M. F. Boudet en 1833. (Dam, 1958; Olson, 1998)

Tanto la abundancia y la universalidad del colesterol y sus derivados en los seres vivos como las implicaciones clínicas de la hipercolesterolemia en la patogenia de la aterosclerosis, ponen de manifiesto su importancia y el interés generado por esta biomolécula. De hecho constituye el compuesto más galardonado de toda la bioquímica: hasta la fecha se han concedido diez premios Nóbel (8 en Química y 2 en Fisiología y Medicina) a investigadores que han dedicado sus esfuerzos al estudio de distintos aspectos de la estructura y metabolismo del colesterol. El último de ellos fue el Nóbel en Fisiología y Medicina de 1985 concedido a Brown y Goldstein por sus estudios sobre su transporte y captación celular (Anderson y cols., 2003; http://nobelprize.org/nobel_prizes/lists/2007.html).

En la década de los 50 y los 60 del siglo pasado se consiguieron grandes avances en el conocimiento del metabolismo lipídico del organismo. Estudios en animales de experimentación y en humanos demostraron que las necesidades de colesterol del organismo se aseguraban tanto con el aporte exógeno como también por la biosíntesis endógena.

Las restricciones dietéticas y los fármacos que reducían la reabsorción intestinal de ácidos biliares, como la colestiramina utilizada desde 1960, no resultaron muy eficaces ya que su efecto hipolipemiante se veía en parte compensado por el incremento por retroalimentación de la biosíntesis endógena de colesterol.

Este hecho hizo que los esfuerzos se centraran en la búsqueda de agentes terapéuticos capaces de inhibir la biosíntesis endógena de colesterol. La

colecstenona, cuyo mecanismo de acción no llegó a conocerse, fue el primero de ellos (Tomkins y cols., 1953). No obstante, pronto quedó patente su inutilidad clínica al causar la acumulación de dihidrocolesterol con capacidad aterogénica similar a la del colesterol (Steinberg y cols., 1958). En 1959 se desarrolló el triparanol o MER-29 (Blohm y cols., 1959), el primer inhibidor de la síntesis endógena de colesterol con mecanismo de acción conocido. El triparanol bloqueaba el paso final de la transformación de escualeno en colesterol, la transformación de desmosterol a colesterol (Avigan y cols., 1960). Con el triparanol se conseguía una reducción significativa del colesterol plasmático en humanos a cambio de un aumento recíproco de los niveles de desmosterol (Steinberg y cols., 1961), que posteriormente se demostró estar asociado al desarrollo de aterosclerosis acelerada en conejos y cataratas en humanos (Avigan y cols., 1962; Laughlin y cols., 1962) lo que finalmente impidió su uso en clínica.

Los primeros intentos de obtener inhibidores de la síntesis endógena de colesterol demostraron que los compuestos que inhibían las fases finales eran de escasa eficacia y/o toxicidad clínica limitante.

Un análisis exhaustivo de las relaciones de retroalimentación entre el aporte exógeno y la biosíntesis endógena resultó clave para la identificación de la formación de mevalonato a partir del 3-hidroximetil glutaril-coenzima A (3-HMG-CoA) como el paso limitante en la biosíntesis de colesterol. Las pistas que condujeron a este hallazgo provenían de las observaciones de que la administración de resinas de intercambio iónico, como la colestiramina, o las restricciones del aporte exógeno de colesterol se asociaban a un incremento de la biosíntesis endógena de colesterol y que ésta, a su vez, se acompañaba de un aumento de la actividad de la 3-hidroximetil glutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa hepática. Por otro lado, las dietas ricas en colesterol que reducían la biosíntesis hepática de colesterol se asociaban a reducciones en la actividad de la HMG-CoA reductasa hepática, la enzima microsomal encargada de catalizar la reducción de la 3-HMG-CoA a mevalonato (Siperstein y cols., 1966; Dietschy y cols., 1970).

La identificación de la HMG-CoA reductasa como la enzima limitante en la biosíntesis endógena de colesterol hizo que en 1970 el Dr. Akira Endo de la compañía Sankyo y de la Universidad Tokio Noko (Japón) postulara que con la inhibición de la HMG-CoA reductasa hepática se lograría una reducción más eficaz del colesterol plasmático. Además, sugirió que algunos microorganismos podrían sintetizar metabolitos secundarios con capacidad inhibidora de la HMG-CoA

reductasa como mecanismo defensivo frente a sus competidores que necesitaran los derivados del mevalonato, como los isoprenoides y el colesterol, para su crecimiento (Endo, 1992; Endo, 2004).

En abril del 1971 junto con Masao Kuroda emprende la ardua tarea de identificar y aislar los postulados inhibidores de la HMG-CoA reductasa y comienza por el estudio de los compuestos derivados de los hongos. A los 2 años y después de analizar a más de seis mil cepas diferentes de hongos aíslan del hongo *Pythium ultimum* el primer compuesto con capacidad inhibidora de la HMG-CoA reductasa al que denominan citrinina (Endo y cols., 1976a). Sin embargo, la citrinina resultó ser un inhibidor irreversible con poca utilidad clínica por su previsiblemente alta toxicidad (Tanzawa y cols., 1977), por lo que prosiguieron su investigación en busca de compuestos que fueran inhibidores reversibles de la HMG-CoA reductasa. Fue a finales del año 1973 cuando aislaron del hongo *Penicillium citrinum* (**Figura 1.1 A**) el primer compuesto, el ML-236B, que inhibía de forma competitiva la HMG-CoA reductasa (Endo y cols., 1976b). El ML-236B o mevastatina, que es como lo llamaron (nombre que, probablemente, sea una abreviatura de "mevalonatostático", es decir, que enlentece pero no suprime la formación de mevalonato), es considerado como la "*penicilina*" para la hipercolesterolemia y la primera estatina de la historia. Pero tal como había postulado Endo la producción de mevastatina como mecanismo defensivo no era exclusivo de una sola cepa de hongos. De forma independiente en el año 1976 el grupo de Brown de los laboratorios Beecham Pharma en Inglaterra (Brown y cols., 1976) aisló del hongo *Penicillium brevicompactum* (**Figura 1.1 B**) un antibiótico con actividad antigonocócica llamado compactina que también inhibía de forma reversible la HMG-CoA reductasa. El desarrollo de la compactina como antibiótico se desestimó al ser su actividad antigonocócica débil al igual que como hipolipemiente al no reducir el colesterol en ratas. Posteriormente se comprobó que se trataba en realidad de la mevastatina aislada 3 años antes por Endo.

Los primeros estudios con mevastatina en animales de experimentación se llevaron a cabo en los laboratorios Sankyo entre los años 1976 y 1977. Los resultados fueron muy esperanzadores; la mevastatina reducía de forma dramática los niveles plasmáticos de colesterol en perros y monos, pero no en ratas. A principios del año 1978 varios pacientes con hipercolesterolemia severa recibieron mevastatina con resultados espectaculares. En noviembre del mismo año se inició en Japón el primer ensayo clínico formal con mevastatina. A mediados de 1980 se demostró su eficacia

clínica objetivándose una reducción del colesterol total y LDL de entre 20 y 40% a dosis de 15 a 60 mg/día sin efectos secundarios serios (Endo, 2004).

En abril de 1976 la farmacéutica Merck se interesó por la mevastatina y solicitó a Sankyo muestras de la molécula para realizar una serie de pruebas de laboratorio y reproducir los resultados obtenidos en Japón. En julio del mismo año Sankyo accede y bajo condiciones de estricta confidencialidad proporciona a Merck cristales de mevastatina junto con el *dossier* completo que contenía los resultados de los estudios bioquímicos, farmacológicos y toxicológicos obtenidos hasta la fecha. En octubre de 1978 Alberts y su equipo en Merck confirman los resultados obtenidos por Endo. Sin embargo, no se limitaron a reproducir los resultados, sino que, de forma secreta iniciaron, en septiembre de 1978, la búsqueda de otro inhibidor competitivo de la HMG-CoA reductasa de origen fúngico. De esta forma Alberts y Chen descubrieron el 16 de noviembre de 1978 que el extracto del hongo *Aspergillus terreus* (**Figura 1.1 C**) inhibía de forma reversible la HMG-CoA reductasa. En febrero de 1979 el equipo de Hoffman, también de los laboratorios Merck, aisló y purificó el principio activo con capacidad inhibidora, al que llamaron mevinolina y que posteriormente rebautizaron como lovastatina. En junio del mismo año Merck obtuvo la patente de la lovastatina (Alberts y cols., 1980).

En diciembre de 1978 Endo abandona los laboratorios Sankyo para continuar su trabajo en la Universidad de Tokio Noko (actual Universidad de Agricultura y Tecnología de Tokio). En febrero de 1979 Endo aisló del hongo *Monascus ruber* (**Figura 1.1 D**) a tres análogos de la mevastatina, monacolina J, K y L, de los cuales la monacolina K resultó ser más potente que la mevastatina por lo que la patentó el mismo mes de su descubrimiento (Endo, 1979).

En octubre de 1979 se comprobaría que la monacolina K de Endo y la mevinolina (lovastatina) de Merck son en realidad el mismo compuesto. La lovastatina fue descubierta tres meses antes (noviembre de 1978 vs. febrero de 1979) pero fue patentada cuatro meses después de la monacolina K (junio de 1979 vs. febrero de 1979). Como consecuencia los países como Estados Unidos que dan prioridad al momento de descubrimiento aceptaron la patente de la lovastatina, mientras que países como Japón y otros 30 más que otorgaban prioridad al momento de la solicitud de la patente reconocieron los derechos de la monacolina K.

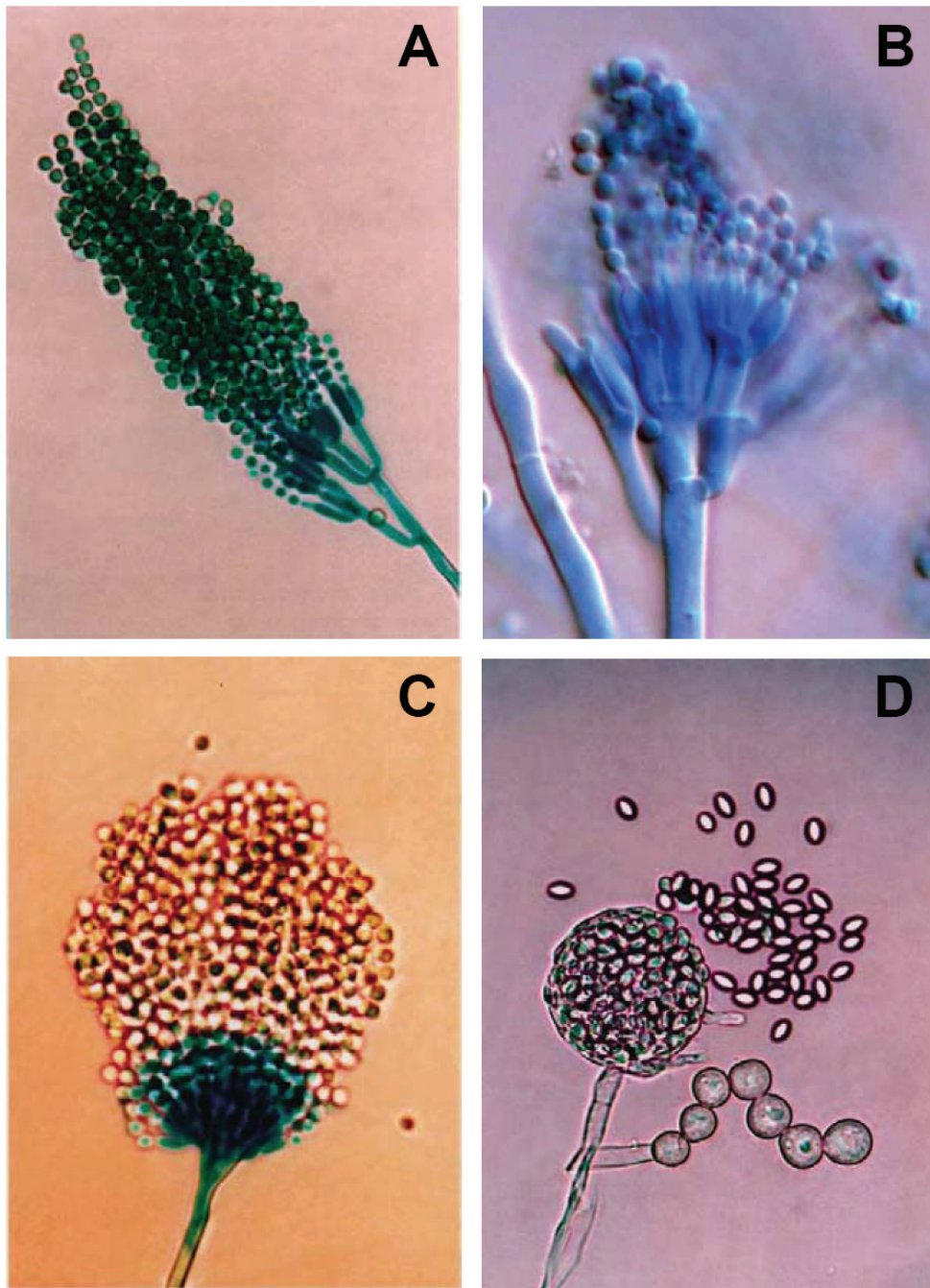


Figura 1.1. Hongos productores de las primeras estatinas.

A, *Penicillium citrinum*, productor de la mevastatina (ML-236B); **B**, *Penicillium brevicompactum*, productor de la compactina (ML-236B); **C**, *Aspergillus terreus*, productor de la mevinolina (lovastatina); y **D**, *Monascus ruber*, productor de la monacolina K (lovastatina).

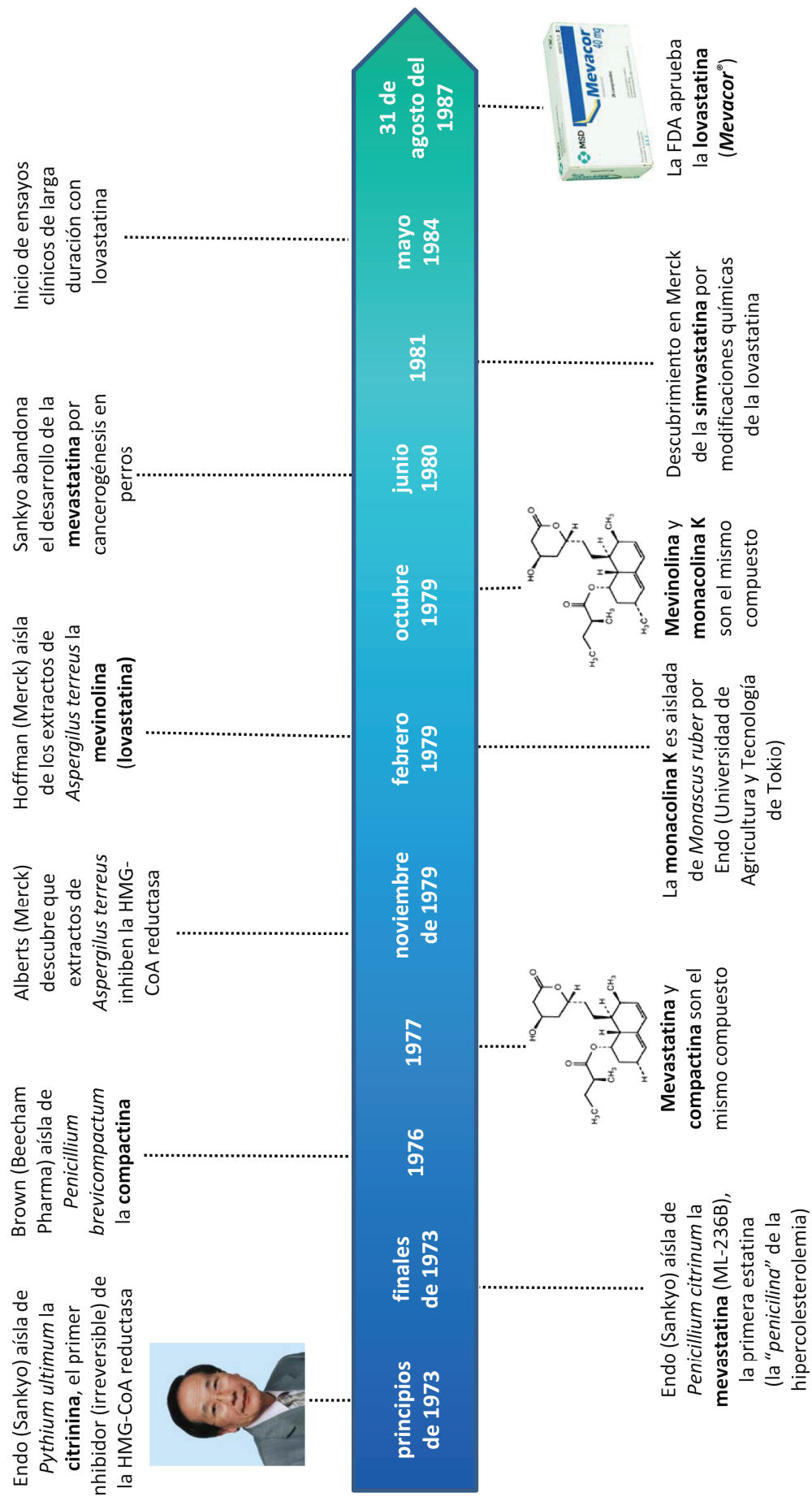


Figura 1.2. Hitos históricos en el descubrimiento y desarrollo de las estatinas.

En noviembre de 1979 Endo cede los derechos sobre la monacolina K a laboratorios Sankyo que pagan a la Universidad de Tokio Noko 35 millones de yenes en concepto de derechos de patente. Esto impide a Merck comercializar la lovastatina en Japón sin pedir permiso a Sankyo (Endo, 2004).

En abril de 1980 se inician los primeros ensayos clínicos con lovastatina. A los pocos meses (junio de 1980) Sankyo decide suspender los ensayos clínicos con mevastatina que se llevaban a cabo en Japón desde 1978 al demostrarse que en los estudios de toxicidad a largo plazo en perros (administrando durante 26 meses dosis 1000 veces superiores a las dosis efectivas en humanos) inducía el desarrollo de tumores intestinales (Endo, 1992). Tras conocer la noticia Merck decide suspender los ensayos clínicos con lovastatina y completar antes los estudios de toxicidad acumulativa a largo plazo. En 1982 los pacientes con hipercolesterolemia refractaria que no responden a ninguno de los tratamientos existentes reciben lovastatina como uso compasivo. Los resultados son espectaculares con escasa miotoxicidad y en noviembre de 1983 se retoman los ensayos clínicos. Los ensayos a gran escala se inician en mayo de 1984 y dos años más tarde sus resultados son presentados a la FDA para su evaluación. El 31 de agosto la US-FDA aprueba la lovastatina (Mevacor®). De esta forma la lovastatina se convirtió en la primera estatina aprobada para uso humano 24 años después del descubrimiento de la mevastatina. En la **Figura 1.2** se resumen los grandes hitos históricos en el descubrimiento y desarrollo de las primeras estatinas.

El descubrimiento de las primeras estatinas inspiró el desarrollo en los años siguientes de nuevos inhibidores de la HMG-CoA reductasa basados en la estructura química de la mevastatina o la lovastatina. Se utilizaron tres grandes estrategias: 1) la modificación química de compuestos naturales de origen fúngico, como por ejemplo, la simvastatina obtenida en 1981 por Merck por modificaciones químicas de la lovastatina; 2) la transformación metabólica de compuestos naturales de origen fúngico por parte de otros microorganismos, como por ejemplo, la pravastatina que es el resultado de la transformación de la mevastatina; y 3) la obtención de estatinas de origen sintético, como son la fluvastatina, la cerivastatina, la atorvastatina, la rosuvastatina y la pitavastatina.

En función de su origen las estatinas se pueden clasificar en tres grupos: naturales, semisintéticas y sintéticas. Las estatinas de origen natural son la mevastatina, la lovastatina y la pravastatina. La única estatina semisintética es la simvastatina. El

grupo de las estatinas de última generación o de origen sintético esta formado por la fluvastatina, la atorvastatina, la cerivastatina, la rosuvastatina y la pitavastatina.

En la **Tabla 1.1** se enumeran las diferentes estatinas que hasta la fecha se utilizan para el tratamiento de la hipercolesterolemia con sus fechas de aprobación y sus nombres comerciales.

Tabla 1.1. Estatinas aprobadas para uso humano			
Nombre genérico (DOE)	Nombre comercial	Compañía farmacéutica	Fecha de aprobación (FDA)
Lovastatina	Mevacor®	Merck & Co	31.08.1987
Pravastatina	Pravachol®	Bristol-Myers Squibb	31.10.1991
Simvastatina	Zocor®	Merck & Co	23.12.1991
Fluvastatina	Lescol®	Novartis	31.12.1993
Atorvastatina	Lipitor®	Pfizer	17.12.1996
Cerivastatina*	Baycol®	Bayer	26.06.1997
Pitavastatina**	Livalo®	Kowa Pharma	xx.07.2003
Rosuvastatina	Crestor®	AstraZeneca	12.08.2003

* Retirada del mercado por Bayer en 2001.

** Aprobada primero en Japón y el sudeste asiático (Mukhtar y cols., 2005) y el 04.08.2009 por la FDA.

DOE: Denominación Oficial Española.

Fuente: US-FDA, CDER: Drug Approval Reports

(<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/>)

1.2.- Estructura y propiedades físico-químicas

1.2.1.- Estructura química

Las estatinas se caracterizan por poseer una estructura química que consta de dos partes fundamentales, una parte común o “HMG-like” y otra específica. La parte “HMG-like” mimetiza con el hidroximetil-glutaril (HMG) de la HMG-CoA, sustrato natural de la HMG-CoA reductasa, y es la responsable de su inhibición competitiva.

En función de los grupos funcionales que componen la parte específica podemos clasificar a las estatinas en tipos 1 y 2 (**Figura 1.3**). En las estatinas de tipo 1 ésta parte consta de dos grupos funcionales: un anillo central hexahidronaftalénico, también, llamado decalínico y una cadena lateral ester metilbutirato. Las estatinas de tipo 1 (mevastatina, lovastatina, simvastatina y pravastatina) se diferencian unas de otras por los distintos radicales que sustituyen el anillo central y/o la

cadena lateral. De esta forma la lovastatina es un 6-metil derivado de la mevastatina, la simvastatina es un derivado ester 2-dimetilbutirato de la lovastatina y la pravastatina es un 6-hidroxi derivado de la mevastatina. En función de su parte "HMG-like" podemos distinguir dos subtipos: las β -hidroxi- δ -lactonas, como la mevastatina, lovastatina y simvastatina, y los β -hidroxiácidos (ácido 3,5-dihidroxi-heptanoico), como la pravastatina. Las estatinas que se administran en forma de lactonas (profármaco) son inactivas y necesitan ser activadas dentro del organismo mediante su transformación en β -hidroxiácidos por apertura del anillo lactónico.

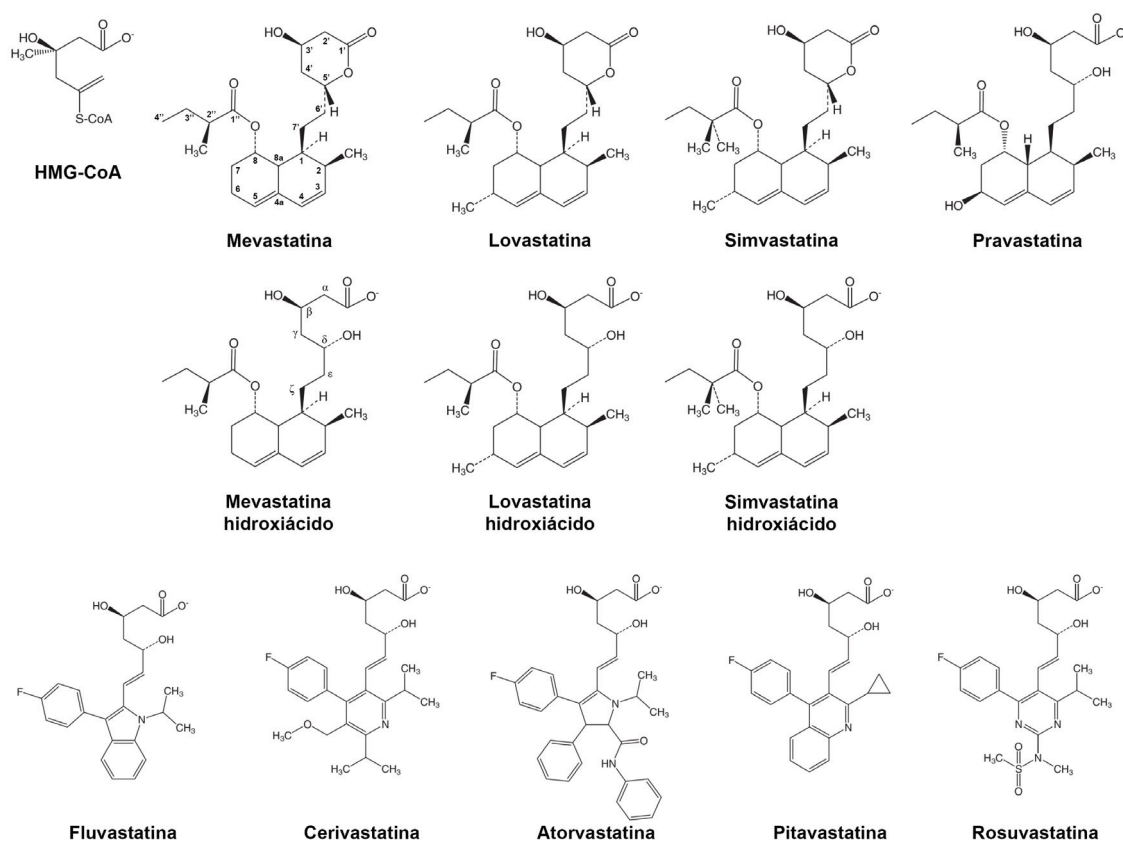


Figura 1.3. Estructura química de las estatinas.

El grupo de las estatinas de tipo 2 engloba a todas las estatinas sintéticas y su parte específica consta de tres grupos funcionales principales: un anillo central, un grupo fluorofenílico y otro metiletilénico. El anillo central con sus radicales es característico de cada una de ellas, mientras que los otros dos grupos funcionales son comunes a todas ellas, a excepción de la pitavastatina en la que el grupo metiletilénico es sustituido por el ciclopropanoico. El anillo central de la fluvastatina es bezopirrolínico o indólico, el de la atorvastatina es pirrolínico, el de la cerivastatina es piridínico, en el caso de la rosuvastatina es pirimidínico, y el de la

pitavastatina es quinolínico. Todas las estatinas de tipo 2 se administran en forma activa pero su β -hidroxiácido (el ácido 3,5-dihidroxi-6-heptaenoico) se diferencia del de las de tipo 1 por tener un enlace doble en la posición C6.

La importancia de la estructura química de las estatinas radica en que es la que establece su afinidad por la diana terapéutica, la HMG-CoA reductasa, la potencia de su efecto terapéutico y sus propiedades físico-químicas que determinan, a su vez, su perfil farmacocinético específico.

1.2.2.- Propiedades físico-químicas

El coeficiente de partición y el de distribución pretenden describir la solubilidad diferencial de un compuesto entre dos solventes inmiscibles como el octanol y el agua. Con ellos se establece el grado de hidrofobicidad e hidrofiliidad de un compuesto. Su utilidad radica en que permiten estimar la distribución de los fármacos en el cuerpo. Los fármacos hidrofóbicos se distribuyen en los compartimentos lipofílicos como las bicapas lipídicas de las membranas celulares, mientras que los hidrofílicos se distribuyen preferentemente en los compartimentos hidrofílicos como el plasma.

El coeficiente de partición (P) se expresa como el logaritmo decimal del cociente de las concentraciones ($[S]$) en octanol y agua de un compuesto no ionizado ($\text{Log}P$).

$$\text{Log}P = \text{Log} ([S]_{\text{octanol}} / [S]_{\text{agua}}^{\text{no ionizado}})$$

En cambio, el coeficiente de distribución (D) se expresa como el logaritmo decimal del cociente de las concentraciones en octanol y agua de un compuesto en su forma ionizada y no ionizada ($\text{Log}D$).

$$\text{Log}D = \text{Log} ([S]_{\text{octanol}} / ([S]_{\text{agua}}^{\text{ionizado}} + [S]_{\text{agua}}^{\text{no ionizado}}))$$

El $\text{Log}D$, a diferencia del $\text{Log}P$, es pH dependiente al depender de pK_a (constante de ionización). Para un compuesto no ionizable el $\text{Log}D$ es igual al $\text{Log}P$. Dado que la mayoría de los fármacos son ionizables el $\text{Log}D$ es un estimador más preciso de su comportamiento en el organismo que el $\text{Log}P$. La hidrofobicidad de los fármacos (cuanto más elevado es su $\text{Log}D$ mayor es su hidrofobicidad) determina su distribución en el organismo una vez absorbidos y en parte condiciona la velocidad de su metabolismo y eliminación.

En la **Tabla 1.2** se describen las características físico-químicas de las ocho estatinas. Según su peso molecular las podemos agrupar en dos grupos. El primero de ellos engloba a las estatinas con un peso molecular comprendido entre los 404 g/mol de la lovastatina y los 424 g/mol de la pravastatina. El grupo de las estatinas

de mayor peso molecular está formado por la cerivastatina, la rosuvastatina y la atorvastatina, siendo ésta última la estatina de mayor peso molecular (558 g/mol).

En todas las estatinas, tanto si se administran como profármaco en forma de lactona o como metabolito activo, en forma de hidroxíácido, en mayor o menor proporción ambas formas coexisten en el organismo. Por regla general, los hidroxíácidos de todas las estatinas presentan un $\text{Log}D$ más bajo que sus lactonas, es decir, son más hidrosolubles que sus profármacos, más lipofílicos (**Tabla 1.2**). A pesar de no disponer de los datos experimentales completos de los $\text{Log}D$ a pH fisiológico de todas las estatinas (Shitara y cols., 2006; Wishart y cols., 2007) utilizando aplicaciones informáticas podemos obtener estimaciones relativamente precisas de sus $\text{Log}D$ (Tetko y cols., 2002; Skotheim y cols., 2008). Con toda esta información podemos ordenar las estatinas en forma de lactona de más liposolubles a más hidrosolubles como sigue: en primer lugar, como las más lipofílicas la simvastatina y la lactona de atorvastatina seguidas de la lovastatina y la lactona de fluvastatina, y por último, la lactona de pravastatina como la menos liposoluble. Desgraciadamente no disponemos de información relativa al $\text{Log}D$ del resto de las lactonas de estatinas. En cambio, la información relativa a los $\text{Log}D$ de los hidroxíácidos de todas las estatinas es completa. Siguiendo el mismo orden, las más lipofílicas serían la cerivastatina, seguida de la atorvastatina y el hidroxíácido de simvastatina. Las de lipofilicidad intermedia serían la pitavastatina, seguida del hidroxíácido de lovastatina y la fluvastatina. Por último, las hidrosolubles serían la rosuvastatina y la pravastatina, siendo esta última, la estatina más hidrofílica.

Hasta hace poco se creía que conociendo las propiedades físico-químicas de los fármacos ($\text{Log}P$ o $\text{Log}D$, o la "regla del 5" de Lipinski (Lipinski y cols., 2001; Keller y cols., 2006) se podía predecir con cierta precisión su comportamiento farmacocinético y concretamente su absorción y distribución en el organismo.

Se consideraba que la difusión pasiva jugaba un papel dominante en el paso de los fármacos a través de las membranas celulares y que los procesos de transporte activo eran una excepción. Sin embargo, en los últimos años se ha puesto de manifiesto que los transportadores juegan un papel fundamental y no minoritario en la distribución de los fármacos (no son la excepción sino la regla) (Dobson y cols., 2008).

Tabla 1.2. Propiedades físico-químicas de las estatinas.

Estatina	Fórmula molecular ^a	Peso molecular (g/mol) ^a	LogP experimental ^a	LogP estimado ^b	pK _a ácido ^b	pK _s base ^b	LogD experimental (pH 7.0) ^c	LogD experimental (pH 7.4) ^c	LogD estimado (pH 7.0) ^d	LogD estimado (pH 7.4) ^d	LogD estimado (pH 7.4) ^e
Lovastatina	C ₂₄ H ₃₆ O ₅	404.54	4.50	4.11	n.d.	n.a.	3.91	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Lov. ácido	C ₂₄ H ₃₈ O ₆	422.55	4.04	3.74	4.40	n.a.	1.51	n.d.	1.14	0.74	n.d.
Simvastatina	C ₂₅ H ₃₈ O ₅	418.57	4.70	4.51	n.d.	n.a.	4.40	n.d.	n.d.	n.d.	4.40
Sim. ácido	C ₂₅ H ₄₀ O ₆	436.58	4.47	4.20	4.40	n.a.	1.88	n.d.	1.62	1.22	1.10
Pravastatina	C ₂₃ H ₃₆ O ₇	424.54	2.20	2.23	4.40	n.a.	-0.47	-0.75	-0.37	-0.77	-1.60
Pra. lactona	C ₂₃ H ₃₄ O ₆	406.53	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.80
Fluvastatina	C ₂₄ H ₂₆ FN ₂ O ₄	411.47	4.50	3.69	4.40	n.a.	1.75	1.00	1.09	0.69	0.70
Flu. lactona	C ₂₄ H ₂₄ FN ₂ O ₃	393.46	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3.80
Atorvastatina	C ₃₃ H ₃₅ FN ₂ O ₅	558.64	5.70	4.24	4.40	n.a.	1.53	1.00	1.00	1.64	1.20
Ato. lactona	C ₃₃ H ₃₃ FN ₂ O ₄	540.63	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4.40
Cerivastatina	C ₂₆ H ₃₄ FN ₂ O ₅	459.55	3.40	4.15	4.40	3.90	2.32	1.50	1.55	1.15	n.d.
Cer. lactona	C ₂₆ H ₃₂ FN ₂ O ₄	441.54	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Pitavastatina	C ₂₅ H ₂₄ FN ₂ O ₄	421.46	n.d.	3.75	4.40	3.90	1.50	n.d.	1.15	0.75	n.d.
Pit. lactona	C ₂₅ H ₂₂ FN ₂ O ₃	403.45	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Rosuvastatina	C ₂₂ H ₂₆ FN ₂ O ₆ S	481.54	1.47	1.47	4.40	2.60	n.d.	-0.25	-1.13	-1.53	n.d.
Ros. lactona	C ₂₂ H ₂₄ FN ₂ O ₅ S	463.53	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

LogP: coeficiente de partición octanol-agua ($\text{LogP} = \text{Log}([S]_{\text{octanol}} / [S]_{\text{agua}}^{\text{no ionizado}})$)
 LogD: coeficiente de distribución octanol-agua ($\text{LogD} = \text{Log}([S]_{\text{octanol}} / ([S]_{\text{agua}}^{\text{ionizado}} + [S]_{\text{agua}}^{\text{no ionizado}}))$)

n.a.: no aplicable
 n.d.: no disponible

pK_s: constante de ionización

^a DrugBank (Wishart y cols., 2007) <http://www.drugbank.ca/>

^b Calculados con la aplicación ALOGPS 2.1 (Tetko y cols., 2002) <http://www.vcclab.org/lab/alogps/>

^c Shitara y cols., 2006

^d Para estimar el LogD se ha utilizado la fórmula: $\text{LogD}_{\text{acidose}} = \text{LogP} + \text{Log}[1 / (1 + 10^{\text{pH}-\text{pK}_a})]$

^e LogD descritos por Skotheim y cols., 2008 estimados con la aplicación ACD/ChemSketch® (Version 5.11, Advanced Chemistry Development Inc. Toronto, Canada)

En el caso de las estatinas (aniones anfipáticos), la importancia de los sistemas de transporte activo a través de las membranas celulares quedó patente en una serie de experimentos en los que se pretendía determinar la concentración a la que inhibían la actividad de la HMG-CoA reductasa al 50% (IC_{50}) (Shitara y cols., 2006). La utilización del fragmento catalítico purificado de la HMG-CoA reductasa humana o del extracto de lisados celulares de hígado de rata, que contienen el sistema enzimático intacto, permite a las estatinas interactuar directamente con su diana terapéutica, por lo tanto, los valores de IC_{50} obtenidos con estos sistemas experimentales acelulares reflejan su potencia absoluta. Sin embargo, cuando se utilizan cultivos celulares las estatinas primero deben atravesar la bicapa lipídica de sus membranas plasmáticas para poder interactuar con su diana. De esta forma los valores de IC_{50} obtenidos con estos sistemas experimentales celulares difieren de los obtenidos con los sistemas acelulares ya que reflejan tanto la potencia absoluta de las estatinas como su capacidad de atravesar las membranas celulares. Las estatinas lipofílicas, como la simvastatina y la lovastatina, presentan en sistemas experimentales celulares una IC_{50} más baja que las estatinas hidrofílicas, como la rosuvastatina y la pravastatina, a excepción de los hepatocitos de rata o humanos en los cuales todas estas estatinas presentan unas IC_{50} similares a las observadas en sistemas experimentales que utilizan extractos celulares. Esta observación viene a confirmar que las estatinas hidrofílicas difícilmente atraviesan las membranas celulares mediante difusión pasiva y que son captadas por los hepatocitos mediante un sistema de transporte activo responsable de la inhibición hepatoselectiva de la HMG-CoA reductasa.

1.3.- Perfil ADME y farmacocinética

La farmacocinética es la parte de la farmacología que estudia los procesos y factores que determinan la cantidad de fármaco presente en el organismo, es decir, los procesos que el organismo ejerce sobre el fármaco y como éstos repercuten sobre su concentración en los fluidos biológicos.

1.3.1.- Perfil ADME

Los medicamentos, tras su administración, sufren una serie de procesos en el organismo (absorción, distribución, metabolismo y excreción) que determinan que la cantidad y concentración del fármaco en los fluidos biológicos sea variable con el tiempo y, por ello, su efecto farmacológico, sea también variable en intensidad y duración. Estos procesos son la absorción, distribución, metabolismo y excreción y con frecuencia se resumen con el acrónimo ADME. Los procesos ADME condicionan

la biodisponibilidad de los fármacos y sus pautas de administración. La magnitud, duración y secuencia de los procesos ADME a los que un fármaco está sometido dependen, por un lado, de su estructura molecular y sus características físico-químicas, la preparación farmacéutica empleada, la vía de administración y, por otro, de los sistemas biológicos del organismo encargados de estos procesos. Como consecuencia de la interacción de un fármaco con los sistemas biológicos responsables de los procesos ADME se obtiene un perfil ADME específico. Este perfil representaría la magnitud, secuencia y duración de los distintos procesos AMDE a los que es sometido el fármaco y que marcará su comportamiento farmacocinético. Dado que el perfil ADME depende en gran medida de la estructura química del medicamento, fármacos con estructuras químicas parecidas interactuarán con los sistemas biológicos encargados de los procesos ADME de manera similar, por lo que, sus perfiles ADME y, en definitiva, su comportamiento farmacocinético, serían equiparables.

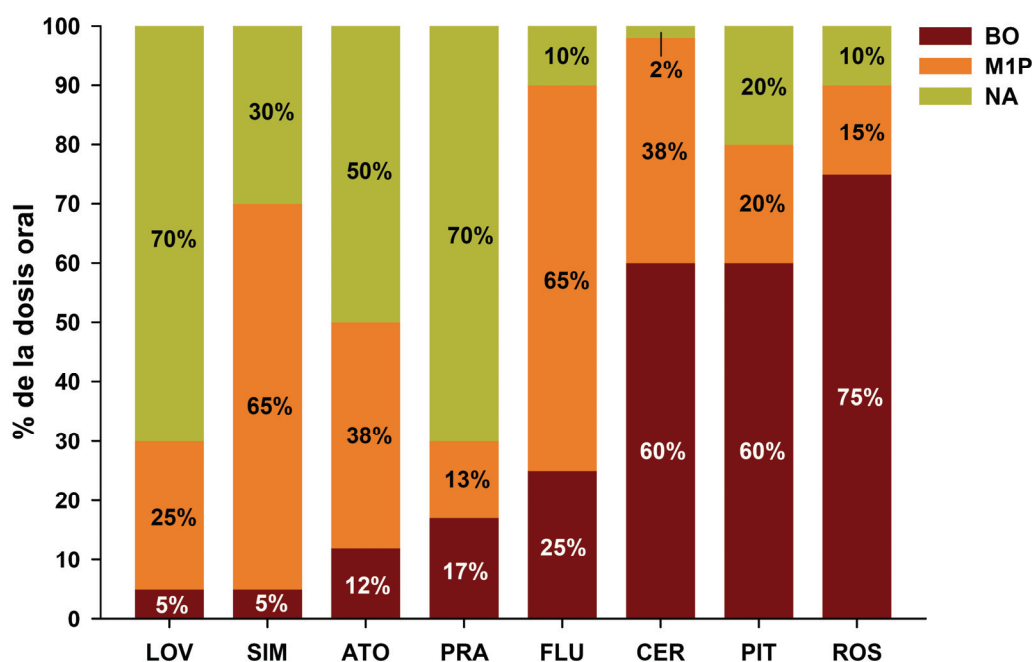


Figura 1.4. Perfil ADME de las estatinas.

En las distintas barras se representa el porcentaje de la dosis oral de las distintas estatinas que no es absorbido (NA), que sufre metabolismo de primer paso (M1P) hepático e intestinal, y finalmente, la cantidad que alcanza la circulación sistémica o biodisponibilidad oral (BO) (Fuente: Boger y cols., 2001; 12931254_Kajinami y cols., 2003; Mukhtar y cols., 2005).

(ATO, atorvastatina; CER, cerivastatina; FLU, fluvastatina; LOV, lovastatina; PIT, pitavastatina; PRA, pravastatina; ROS, rosuvastatina; SIM, simvastatina).

Tabla 1.3. Parámetros farmacocinéticos de los hidroxiácidos y lactonas de las estatinas.											
Parámetro	Lovastatina	Simvastatina	Pravastatina	Fluvastatina	Atorvastatina	Cerivastatina	Pitavastatina	Rosuvastatina			
Dosis (mg)	40	40	40	20	40	0.3	2	20	40	80	
Administrada como	Lactona	Lactona	Hidroxiácido	Hidroxiácido	Hidroxiácido	Hidroxiácido	Hidroxiácido	Hidroxiácido			
Hidroxiácido											
t _{max} (h)	4	1	1	0.43-2.1	0.5-1.5	1-2.5	3	1.2	5	5	4-5
C _{max} (ng/mL)	2.7	6.9	45-66	53-370	200-440	13-76	3.2	41	6.1	19	39-50
t _{1/2} (h)	-	3.5	1.8-2.0	-	0.8-2.4	7.8-21	3.2	13	-	20	17
AUC _t (ng h/mL)	34	25	110-140	110-440	320-570	58-620	21	120	63	180	310-410
Lactona											
t _{max} (h)	2.4	4	2	-	-	3	3	1.6	-	5.1	4.5
C _{max} (ng/mL)	2.8	3.2	1.6	-	-	4.2	0.30	22	-	-	7.1
t _{1/2} (h)	2.5-3	1.9-3	-	-	-	8.3	4.8	12	-	-	21
AUC _t (ng h/mL)	28	20	3.3	-	-	47	1.9	170	-	-	110
Unión a proteínas (%)	95	95	48	>99	>98	>99	>99	>99	90		
Vd/F (L/kg)	-	-	0.46	0.42	-	0.32	-	-	-		
CL/F (L/h/kg)	0.26-1.10	0.45	0.81	0.97	0.25	0.20	-	-	-		
Excreción Biliar (%)	>70	>80	66	68	>70	70	>90	>90	90		
Excreción Renal (%)	10	13	20-44	6	2	24	10	10	10		

El aclaramiento (CL/F) y el volumen (Vd/F) aparentes, al igual que la unión a proteínas plasmáticas y la excreción biliar y renal, descritos son los correspondientes a los de las lactonas, en el caso de lovastatina y simvastatina, y a los de los hidroxiácidos, en el caso del resto de estatinas.

Fuente: Corsini y cols., (1999); Wierzbicki y cols., (2003); García y cols., (2003); Shitara y cols., (2006).

1.3.1.1.- Absorción intestinal

Después de la administración oral todas las estatinas son absorbidas rápidamente alcanzando su máxima concentración plasmática dentro de las 4 horas post administración (**Tabla 1.3**). La absorción intestinal varía considerablemente entre las estatinas (**Figura 1.4**). La cerivastatina es la estatina que mejor se absorbe (98%) seguida por la rosuvastatina (90%) y la fluvastatina (90%). La absorción intestinal de pitavastatina y simvastatina es buena (80% y 70%, respectivamente) y la de atorvastatina es intermedia (50%). En cambio, sólo un tercio de la dosis administrada de lovastatina y pravastatina es absorbida.

1.3.1.2.- Distribución

Las estatinas circulan en plasma unidas casi en su totalidad (entre 90-99%) a las proteínas plasmáticas, fundamentalmente albúmina (**Tabla 1.3**), con la única excepción de la pravastatina que dada su naturaleza más hidrofílica se encuentra circulando en forma libre en algo más del 50%. Como consecuencia de su extensa unión a proteínas plasmáticas la exposición sistémica a la forma no unida es escasa. Sin embargo, esto no impide a que las estatinas sufran una extensa extracción hepática. Dado que la aparición de su efecto farmacológico no es inmediata las estatinas son más insensibles a fluctuaciones temporales en su fracción libre.

Los estudios de distribución en diferentes especies son consistentes con una elevada hepatoselectividad de las estatinas y una muy inferior distribución en los tejidos periféricos. Los volúmenes de distribución en equilibrio estacionario que se conocen para varias de las estatinas (**Tabla 1.3**) indican que su distribución está restringida al espacio vascular. Las estatinas en forma de lactona atraviesan con mayor facilidad la barrera remato-encefálica (BHE) por difusión pasiva, dada su mayor lipofilicidad, en cambio en su forma de hidroxácido necesitan la ayuda de transportadores. El porcentaje de estatinas en forma de hidroxácido y de lactona que circula unido a proteínas plasmáticas también es diferente, nuevamente por su distinta lipofilicidad, siendo la concentración libre del hidroxácido superior a la de la lactona (García y cols., 2003). La información sobre la distribución de las estatinas en el músculo estriado en humanos es muy escasa.

1.3.1.3.- Metabolismo

El metabolismo de primer paso, tanto a nivel hepático como intestinal, que sufren las estatinas varía de unas a otras (**Figura 1.4**). El 65% de la dosis administrada

por vía oral de simvastatina y fluvastatina es metabolizada. Esta cantidad es del 38% en el caso de la atorvastatina y la cerivastatina. En cambio, en el caso de la lovastatina y la pitavastatina es del 25% y el 20%, respectivamente. Las estatinas que son metabolizadas en menor proporción son la rosuvastatina y la pravastatina con el 15% y el 13%, respectivamente. Como consecuencia de las diferencias en la absorción y el metabolismo de primer paso el porcentaje de la dosis oral que alcanza la circulación sistémica (biodisponibilidad oral), también, varía de unas de estatinas a otras (**Figura 1.4**). La estatina con mayor biodisponibilidad oral es la rosuvastatina (75%) seguida de cerca por la cerivastatina y la pitavastatina (60%). Comparada con ellas la biodisponibilidad oral del resto de estatinas es mucho más baja, siendo en el caso de la fluvastatina, la pravastatina y la atorvastatina del 25%, el 17% y el 12%, respectivamente. La lovastatina y la simvastatina son las estatinas con menor biodisponibilidad oral (5%).

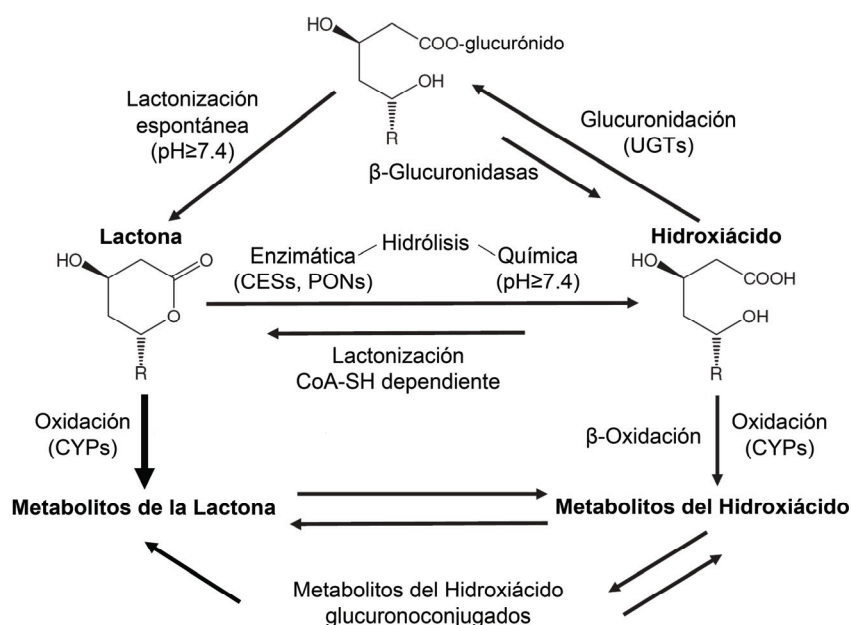


Figura 1.5. Vías metabólicas y de interconversión lactona-hidroxiácido comunes de las estatinas (Modificada de Prueksaritanont y cols., 2002). CESs, carboxilesterasas; CYPs, citocromos-P450; PONs, paraoxonasas; UGTs, UDP-glucuronil-transferasas.

El metabolismo de las estatinas es complejo ya que comprende la interconversión por varias vías de los hidroxiácidos y sus correspondientes lactonas. Esta interconversión ocurre tanto en las estatinas administradas en forma de lactona como en las administradas en forma de hidroxiácido. Tal y como se muestra en el **Figura 1.5**, las lactonas son hidrolizadas a sus correspondientes hidroxiácidos de forma espontánea a pH alcalinos (Grabarkiewicz y cols., 2006) o de forma

enzimática catalizada por carboxilesterasas (*CESs*; EC: 3.1.1.1) (Tang y cols., 1995; Fleming y cols., 2005) o paraoxinasas (*PONs*; EC: 3.1.1.2) (Billecke y cols., 2000; Draganov y cols., 2000 y 2005) presentes en plasma, hígado y epitelio intestinal.

En humanos existen 6 genes de *CESs* que están localizados en el cromosoma 16 formando dos grupos o *clusters*: el *CES4-CES1-CES7* y el *CES2-CES3-CES6* (Holmes y cols., 2008). El gen *CES1* codifica la isoforma mayoritaria en el hígado, aunque se expresa, también en epitelio pulmonar y otros tejidos. El gen *CES2* codifica, a su vez, la isoforma mayoritaria a nivel intestinal con expresión, también en hígado, riñón, corazón y músculo estriado. El gen *CES3* se expresa en hígado, colon e intestino delgado. Hasta la fecha los productos de los genes *CES4*, *CES6* y *CES7* no están suficientemente caracterizados a nivel proteico.

En humanos la familia de las *PONs* está compuesta por tres miembros: *PON1*, *PON2* y *PON3*; localizados en el cromosoma 7 formando un único *cluster*. Las *PONs* poseen una actividad lactonasa, es decir, hidrolizan lactonas, aunque con diferente afinidad por los sustratos (Draganov, 2007). La *PON1* es sintetizada en el hígado y gran parte de ella es secretada a la sangre donde circula unida a la fracción HDL. La *PON3*, al igual que *PON1*, se sintetiza en el hígado, aunque sólo 5% de ella es secretado al torrente circulatorio, también se expresa a lo largo de todo el tracto gastrointestinal sobre todo en esófago y estómago. Se considera que la *PON3* ejerce su papel fisiológico a nivel hepático y que su presencia en suero unida a las HDL es más bien una situación patológica (Draganov, 2007). La *PON2* no se detecta en suero pero se expresa en cerebro, hígado, riñón y testículos. Aunque el papel fisiológico de las *PONs* se desconoce, existen evidencias sólidas que apuntan a que poseen un efecto antiaterogénico al evitar la oxidación de las partículas LDL. Recientemente se ha descrito la existencia de un dimorfismo sexual en la expresión y la actividad de la *PON1*, siendo mayor en las mujeres que en los hombres, tanto en humanos como en animales de experimentación (Winnier y cols., 2007), al igual que un efecto diferente en función del sexo de la sobreexpresión de *PON3* en ratones (Shih y cols., 2007). Sin duda hacen falta más investigaciones para comprender mejor las interacciones entre sexo, hormonas sexuales, *PONs* y aterosclerosis.

Los hidroxiácidos de las estatinas, a su vez pueden volver a transformarse en lactonas (**Figura 1.5**). Este proceso de lactonización puede llevarse a cabo mediante dos vías: la glucuronoconjugación catalizada por las UDP-glucuronil

transferasas (UGTs) (Prueksaritanont y cols., 2002) o la activación enzimática Coenzima A (CoA-SH) dependiente (Li y cols., 2006). En la primera vía de lactonización, los productos intermediarios que se forman son los acil-glucurónidos que a $\text{pH} \geq 7.4$ sufren de forma espontánea una migración del conjugado acílico que termina con la ciclación del anillo lactónico. Los acil-glucurónidos pueden, también, en presencia de las β -glucuronidasas de las bacterias intestinales, convertirse en sus correspondientes hidroxiácidos (Prueksaritanont y cols., 2002). Las acil-CoA sintetas de cadena larga (ACSLs, EC: 6.2.1.3) microsomales son las encargadas de catalizar la activación de los hidroxiácidos mediante la formación de derivados acil-CoA tioester intermediarios que mediante un proceso de acilación intramolecular espontánea dan lugar a la correspondiente lactona. Al igual que en el caso anterior los derivados acil-CoA tioester pueden dar lugar a su correspondiente hidroxiácido mediante una hidrólisis catalizada, en este caso, por las acil-CoA tioeterasas (ACOTs, EC: 3.1.2.2) (Li y cols., 2006).

Como se puede observar en la **Figura 1.5**, tanto las lactonas como sus hidroxiácidos son oxidados por los citocromos P450 (CYPs). En general, las lactonas de las distintas estatinas poseen mayor afinidad por los CYPs de modo que son metabolizados con mayor rapidez que los hidroxiácidos debido probablemente a la menor lipofilicidad de estos últimos (Fujino y cols., 2004). La oxidación por los CYPs es la principal vía metabólica de las estatinas ya que su capacidad metabolizadora es, dependiendo de la estatina, entre 7.2 y 71 veces superior a la de la glucuronoconjugación de los hidroxiácidos por parte de las UGTs (Fujino y cols., 2004). Otra alternativa para el metabolismo de los hidroxiácidos es su β -oxidación en la matriz mitocondrial, no obstante, a diferencia de los roedores, esta vía metabólica es de escasa importancia en humanos (Prueksaritanont y cols., 2001).

- **Lovastatina**

Las enzimas encargadas de la oxidación de la lovastatina y su hidroxiácido son el CYP3A4 y el CYP3A5. Aunque no se descarta la participación de otros CYPs, estos dos son las responsables de la producción de más del 80% de los metabolitos oxidativos (Christians y cols., 1998; Vyas y cols., 1990). Los principales metabolitos de la lovastatina y de su hidroxiácido son el 6' β -hidroxi, el 6'-exometilen y el 3''-hidroxi (**Figura 1.6**) representando el 50%, el 15% y menos del 5% de los metabolitos oxidativos detectados en plasma, respectivamente (Wang y cols., 1991). Su generación se realiza tanto a nivel hepático como intestinal, aunque su producción en los enterocitos sea entre 4 y 8 veces inferior a la que tiene lugar en los hepatocitos (Jacobsen y cols., 1999a y 1999b). Comparados con el hidroxiácido de lovastatina sus metabolitos 6' β -hidroxi, 6'-exometilen y 3''-

hidroxi poseen un 60%, 50% y 15% de actividad inhibidora frente a la HMG-CoA reductasa, respectivamente (Garcia y cols., 2003).

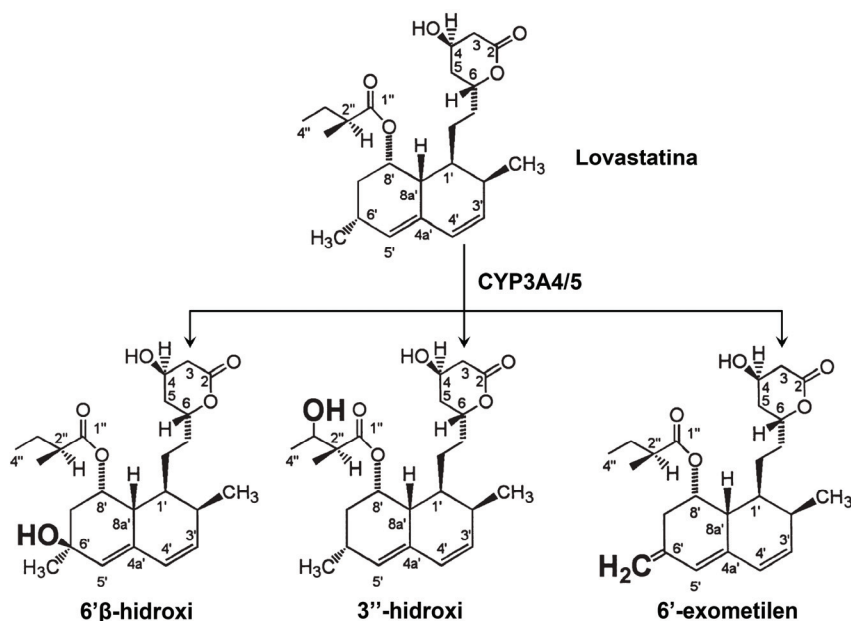


Figura 1.6. Principales vías metabólicas de la lovastatina (Fuente: Wang y cols., 1991).

• Simvastatina

La simvastatina sufre un extenso metabolismo oxidativo resultante en la aparición de más de diez metabolitos (Vickers y cols., 1990a y 1990b). Las vías metabólicas y la estructura de los metabolitos guardan cierta similitud con los de la lovastatina. De igual forma, los citocromos responsables de la producción de más del 80% de los metabolitos oxidativos son el CYP3A4 y el CYP3A5, en cambio, el CYP2C8 es el responsable de la producción del restante 20% (Prueksaritanont y cols., 1997 y 2003). En la **Figura 1.7** se representan las vías metabólicas y la estructura de los principales metabolitos de la simvastatina. Los principales metabolitos de la simvastatina y de su hidroxilado son el 6β-hidroxi, el 6'-exometilen (M3) y el 3''-hidroxi junto al 3'5'-dihidrodil (M1). A pH ácidos el 6β-hidroxi sufre una isomerización dando lugar a un metabolito secundario, el 3'-hidroxi (M2). A su vez, por la acción oxidativa de los CYPs el 6'-exometilen genera un aldehído intermediario que puede ser reducido dando lugar al 6β-carboxi o metabolizado a un derivado 6β-hidroximetil (Prueksaritanont y cols., 1997). Los metabolitos 6β-hidroxi y 6β-carboxi son los únicos activos. Poseen el 52% y el 27% de la actividad inhibitoria del hidroxilado de simvastatina frente a la HMG-CoA reductasa, respectivamente. Además son los más abundantes representando al 30% de los

metabolitos excretados en bilis. La cantidad de 3''-hidroxi generada con la oxidación de la simvastatina es mucho mayor que con lovastatina.

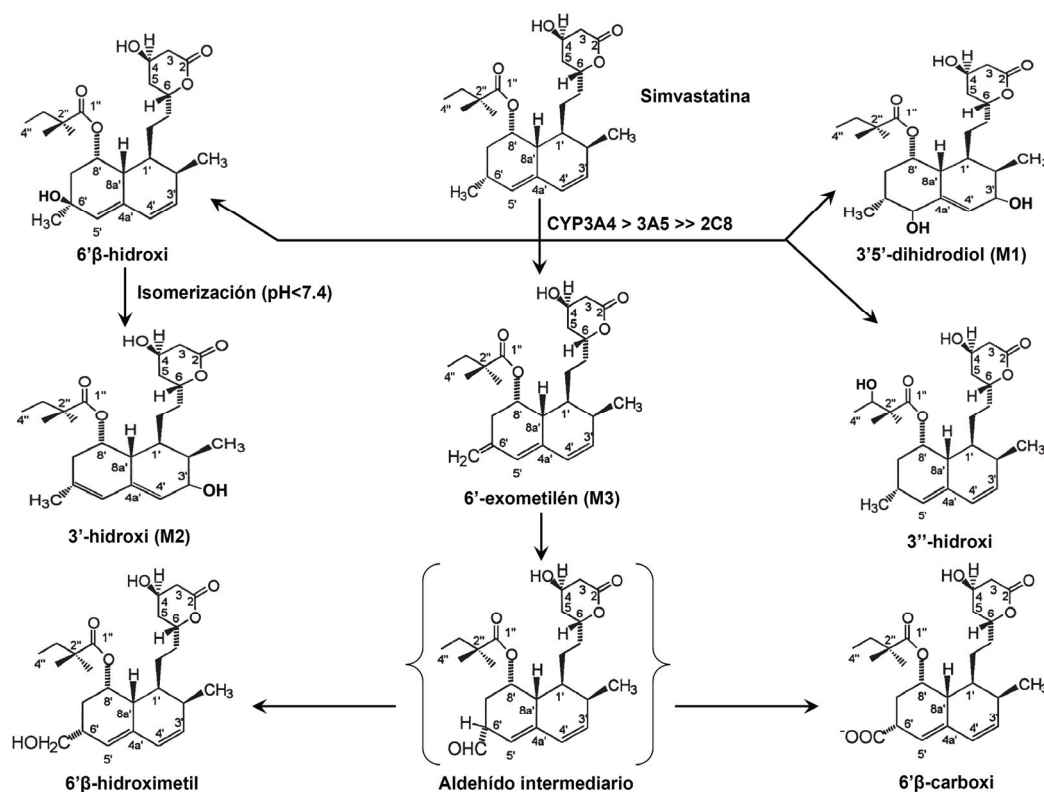


Figura 1.7. Principales vías metabólicas de la simvastatina (Modificada de Prueksaritanont y cols., 1997 y Christians y cols., 1998).

• Pravastatina

La pravastatina, al ser la estatina más hidrofílica, se diferencia del resto por ser la menos metabolizada (**Figura 1.4**) y la que es eliminada en mayor proporción inalterada. No obstante, en humanos se han detectado más de 15 metabolitos. En la **Figura 1.8** se representan las vías metabólicas y la estructura de los principales metabolitos de la pravastatina. Durante su metabolismo la pravastatina es sometida a reacciones de isomerización, glucuronoconjugación, sulfatación, conjugación a glutatión y oxidación. Cuantitativamente sus principales vías metabólicas son la degradación o isomerización, las reacciones de conjugación y en menor medida las reacciones de oxidación. Los metabolitos 3'α-iso y el 6'-epi son generados por isomerización no enzimática a pH ácido que tiene lugar en la luz gástrica antes de la absorción (Everett y cols., 1991; Ito y cols., 1998). Sin embargo, su formación también puede tener lugar en el citosol de hepatocitos y enterocitos previa formación de un 6'β-O-sulfato intermediario catalizada por las

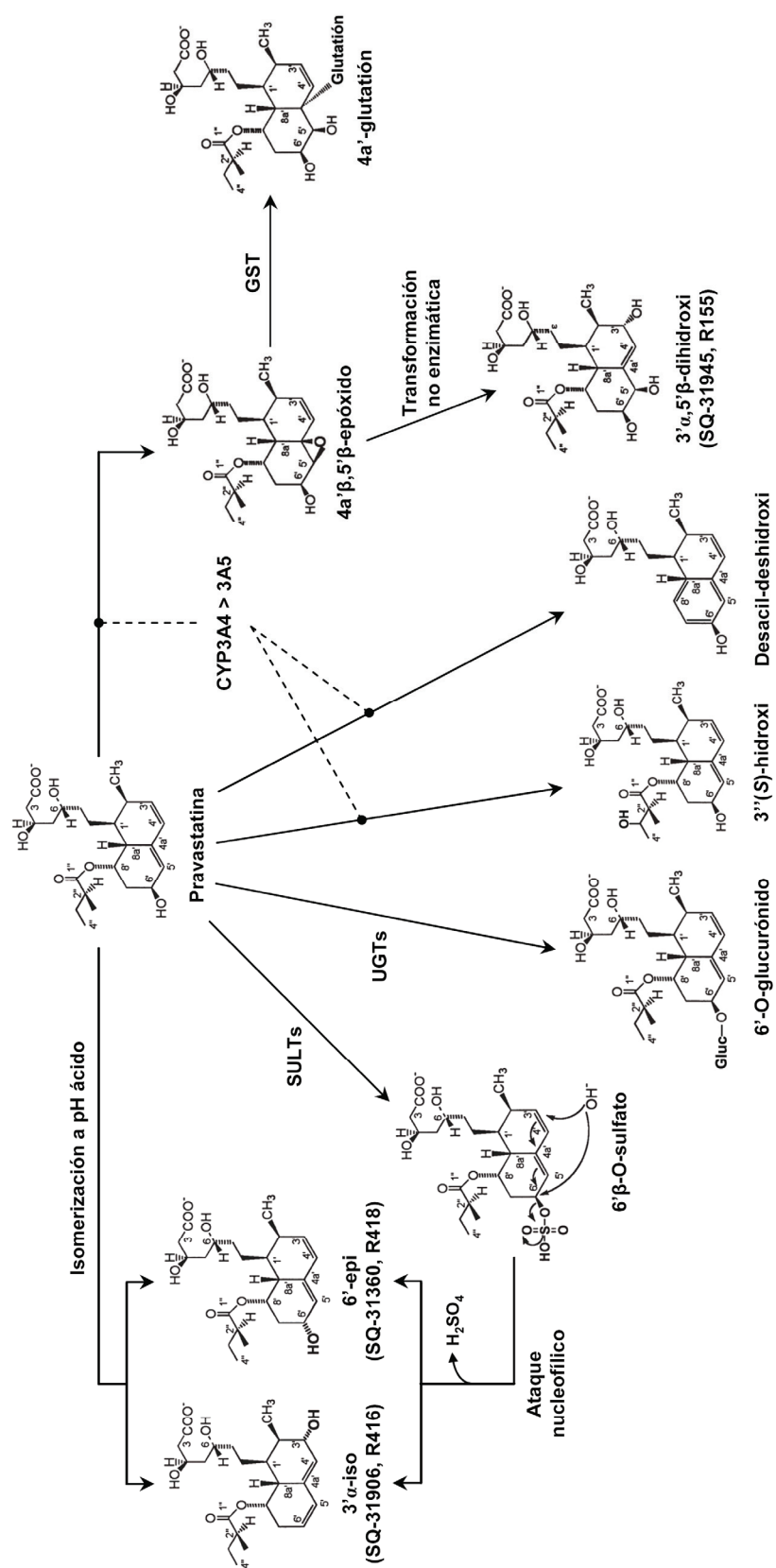


Figura 1.8. Principales vías metabólicas de la pravastatina (Fuente: Everett y cols., 1991; Christians y cols., 1998; Jacobsen y cols., 1999a; Hatanaka y cols., 2000).

sulfotransferasas (SULTs) seguido de un ataque nucleofílico por parte de los aniones hidroxilo en las posiciones 3'α o 6'β (Kitazawa y cols., 1993). De este modo, y dado su doble origen, los derivados 3'α-iso y 6'-epi pueden ser considerados productos de degradación y a la vez metabolitos. El 6'-O-glucurónido se forma por glucuronoconjugación directa catalizada por las UGTs. Las reacciones de oxidación, catalizadas en el 75% por los CYP3A4 y CYP3A5, son las responsables de la formación, tanto a nivel intestinal como hepático, de los metabolitos 3''-hidroxilo, desacil-deshidroxilo y 3'α5'β-dihidroxilo (Jacobsen y cols., 1999a y 1999b; Hatanaka y cols., 2000). El metabolito desacil-deshidroxilo se forma por oxidación a cetona y posterior aromatización espontánea (Everett y cols., 1991). El 3''(S)-hidroxilo metabolito se forma por oxidación estereoespecífica. La formación del 3'α5'β-dihidroxilo es necesaria la formación de un metabolito oxidativo intermediario, el 4a'β,5'β-epóxido, que actúa de precursor de la formación no enzimática del 3'α5'β-dihidroxilo y del 4a'-glutathione conjugado catalizada por la glutathione-S-transferasa (GST). El 3'α5'β-dihidroxilo se forma por protonación del oxígeno del epóxido, migración del doble enlace de C(3')-C(4') a C(4')-C(4'a) seguido de un ataque nucleofílico al hidroxilo anión del C(4'a) (Christians y cols., 1998). El aclaramiento intrínseco (CL_{int}) del metabolito 3''(S)-hidroxilo es 3 veces menor que el del 3'α5'β-dihidroxilo (Jacobsen y cols., 1999b). El principal CYP implicado en la producción de estos metabolitos oxidativos es el CYP3A4 ya que el CYP3A5 es entre 4 y 6 veces menos efectivo en catalizar su formación (Jacobsen y cols., 1999a). El CYP3A4 y el CYP3A5 son los responsables de catalizar la oxidación del metabolito 3''(S)-hidroxilo, en cambio son responsables de la formación del 75% del 3'α5'β-dihidroxilo dejando abierta la posibilidad de que también otros CYPs puedan estar implicados. Estudios en hepatocitos de ratón sugieren que el CYP1A2 puede ser uno de los implicados (Soucek y cols., 1992; Christians y cols., 1998), aunque estos resultados no se han podido confirmar en hepatocitos humanos (Jacobsen y cols., 1999a y 1999b). La formación de los metabolitos oxidativos de la pravastatina es varios miles de veces inferior al de los de la lovastatina. Esta marcada diferencia radica en que la pravastatina ya está hidroxilada en el carbono C(6'β) que es el principal sitio de oxidación de la lovastatina por lo que el metabolismo oxidativo representa una vía minoritaria en su metabolismo (Jacobsen y cols., 1999a).

El 3'α-iso es el único metabolito activo, aunque su actividad inhibidora de la HMG-CoA reductasa sea solo el 2.5 al 10% de la actividad de la pravastatina. Además es, después de la pravastatina, el metabolito más abundante presente en plasma (24%) seguido por el desacil-deshidroxilo (6.8%), el 3'α5'β-dihidroxilo (3.3%), el 6'-epi

(1%) y el 3''-hidroxi (0.6%). En orina, también es el metabolito más abundante (10%), seguido por el 3'α5β-dihidroxi (6.2%), el desacil-deshidroxi (5%), el 6'-O-glucurónido (4.9%), el 3''-hidroxi (3.3%) y el 6'-epi (2.8%). En heces, el 3'α-iso (14%) y el 6'-epi (0.7%) son los metabolitos más abundantes (Everett y cols., 1991).

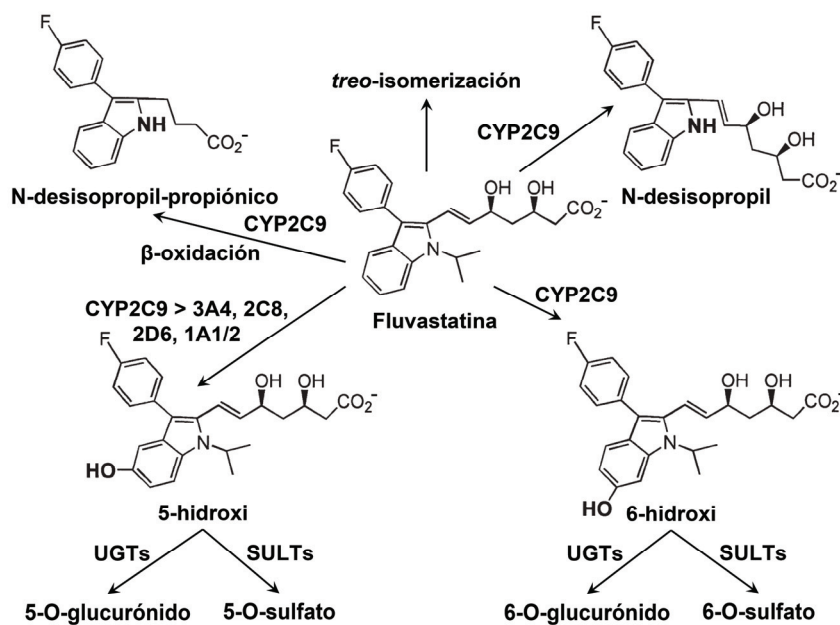


Figura 1.9. Principales vías metabólicas de la fluvastatina (Modificada de Christians y cols., 1998; Scripture y cols., 2001).

• Fluvastatina

La fluvastatina sufre una extensa biotransformación en el organismo. Es junto con la simvastatina la que mayor metabolismo de primer paso experimenta (65%) de todas las estatinas (**Figura 1.4**). Se administra en forma de mezcla racémica a partes iguales de dos *eritro*-enantiómeros siendo el enantiómero (3*R*,5*S*) de la fluvastatina treinta veces más activo que el (3*S*,5*R*) (Scripture y cols., 2001). En la **Figura 1.9** se representan las principales vías metabólicas de la fluvastatina y sus metabolitos. El principal metabolito que se detecta en plasma es el derivado N-desisopropil-propiónico que es inactivo y se forma por N-desalquilación del anillo indólico catalizada por el CYP2C9 seguida de β-oxidación de la cadena lateral. Los metabolitos más abundantes en bilis son el 5-hidroxi (24%), el 6-hidroxi (24%) y el N-desisopropil (11%) (Christians y cols., 1998). Mientras la formación de los derivados N-desisopropil y 6-hidroxi es catalizada casi exclusivamente por el CYP2C9, en la formación del 5-hidroxi, además del CYP2C9, intervienen otros

citocromos (CYP3A4, 2C8, 2D6 y 1A2) (García y cols., 2003). Los derivados 5-hidroxi y 6-hidroxi poseen el 88% y el 45% de la actividad inhibidora de la fluvastatina, respectivamente. Otras vías metabólicas minoritarias son la *treo*-isomerización y la lactonización de la fluvastatina, y la sulfo y glucuronoconjugación de sus metabolitos hidroxilados (5-hidroxi y 6-hidroxi) catalizada por las sulfotransferasas (SULTs) y las UDP-glucuroniltransferasas (UGTs), respectivamente.

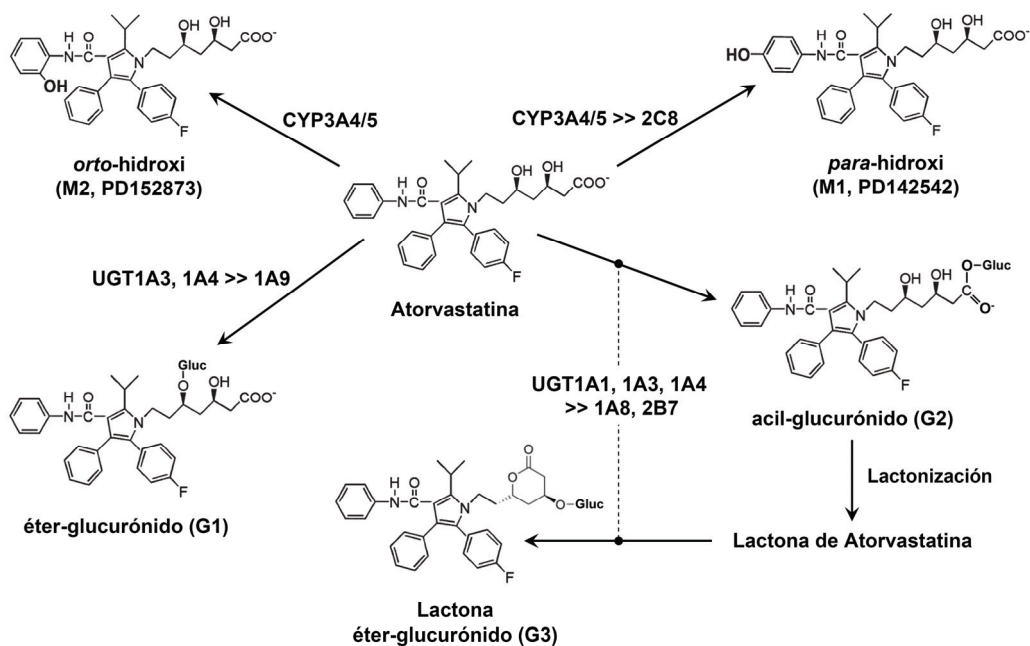


Figura 1.10. Principales vías metabólicas de la atorvastatina (Fuente: Christians y cols., 1998; Jacobsen y cols., 2000; Goosen y cols., 2007).

• Atorvastatina

Las principales reacciones en el metabolismo de la atorvastatina son las reacciones de oxidación y las de glucuronoconjugación. Los principales metabolitos oxidativos de la atorvastatina son los derivados *orto*-hidroxi y *para*-hidroxi (**Figura 1.10**). Los citocromos responsables de catalizar su formación son el CYP3A4 y CYP3A5, y en el caso del *para*-hidroxi, también el CYP2C8 aunque con una capacidad metabolizadora cincuenta veces inferior (Jacobsen y cols., 2000). Ambos metabolitos poseen una actividad correspondiente al 70% de la capacidad inhibidora de la atorvastatina (Christians y cols., 1998; García y cols., 2003). La lactona de atorvastatina, al igual que el resto de estatinas, posee mayor afinidad por los citocromos encargados de catalizar su metabolismo que su hidroxiácido. No obstante, en el caso de la lactona de atorvastatina su afinidad por los CYP3A4/5 es

cinco veces mayor que la de la lovastatina y la simvastatina (Jacobsen y cols., 2000). No existen diferencias en la afinidad por los CYP3A4/5 entre los derivados *orto*- y *para*-hidroxi de la atorvastatina pero sí entre los de la lactona de atorvastatina, siendo la afinidad del *para*-hidroxi diez veces mayor. Por otro lado la capacidad inhibidora de la lactona de atorvastatina sobre el metabolismo de la atorvastatina por parte de los CYP3A4/5 es cien veces superior al de ésta para inhibir el metabolismo de su lactona (Jacobsen y cols., 2000).

La contribución de las reacciones de glucuronoconjugación al metabolismo de la atorvastatina, al igual que en el resto de estatinas, es escasa en comparación con las reacciones de oxidación. En el caso de la atorvastatina se han determinado las UDP-glucuroniltransferasas (UGTs) responsables de la formación de los tres glucuronoconjugados (G1, G2 y G3) identificados (Goosen y cols., 2007). Las UGTs pueden catalizar la formación de dos glucuronoconjugados de atorvastatina: uno, el minoritario, es un éter glucurónido alifático (G1) catalizado por UGT1A3, UGT1A4 y en menor medida UGT1A9; y otro, el mayoritario, es el 1-O-acil- β -D-glucurónido (G2) catalizado por UGT1A1, UGT1A3 y en menor medida UGT1A4, UGT1A8 y UGT2B7. El G2 por lactonización pH-dependiente da lugar a la formación de la lactona de atorvastatina que por la acción de las mismas UGTs, a su vez, da lugar al 3-O-éter- β -D-glucuronoconjugado de la lactona de atorvastatina.

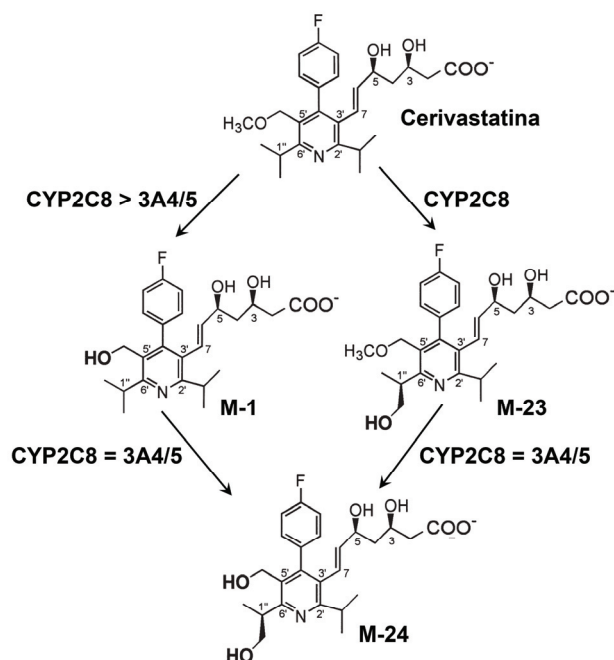


Figura 1.11. Principales vías metabólicas de la cerivastatina (Modificada de Christians y cols., 1998).

• Cerivastatina

El metabolismo de la cerivastatina se caracteriza por dos principales reacciones oxidativas de biotransformación: una desmetilación de la cadena lateral benzil-metil éter en el C(5') que da lugar al metabolito M-1, y una hidroxilación estereoselectiva del grupo funcional 6'-isopropílico que origina al enantiómero (3R,5S,1''S) del metabolito M-23 (Christians y cols., 1998). Estos metabolitos son posteriormente hidroxilados (M-1) o desmetilados (M-23) para dar lugar al M-24, el único metabolito secundario identificado (**Figura 1.11**). La formación de los metabolitos M-1 y M-23 es catalizada por el CYP2C8 y dada la menor afinidad por los CYP3A4 y 3A5 contribuyen sólo en la formación del metabolito M-1. En cambio, la formación del metabolito M-24 es catalizada indistintamente, tanto por el CYP2C8 como por los CYP3A4 y 3A5 (Garcia y cols., 2003). El M-1 y el M-23 son los principales metabolitos detectados en plasma. El M-23 posee la misma actividad inhibidora de la HMG-CoA reductasa que la cerivastatina y el M-1 conserva solo el 50%. Aunque el M-24, (también activo) no se halla detectado en plasma, juntos estos tres metabolitos son los responsables del 25% de la actividad inhibidora de la cerivastatina.

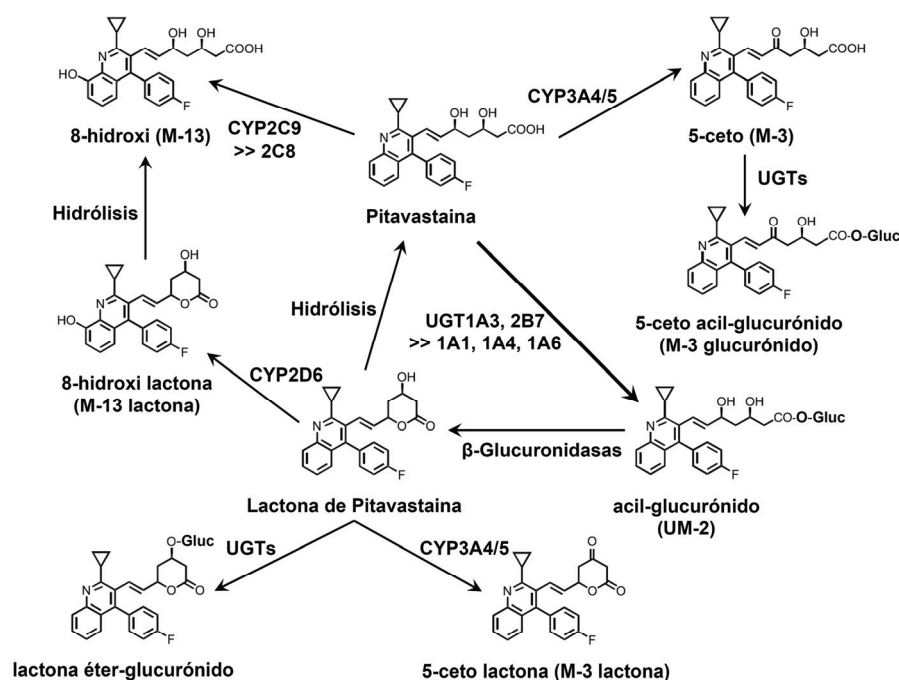


Figura 1.12. Principales vías metabólicas de la pitavastatina (Modificada de Fujino y cols., 2003; Kajinami y cols., 2003; Mukhtar y cols., 2005; Uno y cols., 2007).

- **Pitavastatina**

La pitavastatina a diferencia de otras estatinas tiene menor afinidad por los CYPs y su principal vía metabólica es su lactonización a través de la formación de acil-glucurononjugados intermedios (Mukhtar y cols., 2005). Su escaso metabolismo por los CYPs, cien veces inferior al de la lovastatina, cincuenta veces inferior al de la simvastatina, treinta veces inferior al de la fluvastatina y ocho veces inferior al de la atorvastatina (Kajinami y cols., 2003), contribuye a su elevada biodisponibilidad oral (**Figura 1.4**). Las principales reacciones en el metabolismo de la pitavastatina son su lactonización vía glucuronoconjugación intermedia y la hidroxilación del anillo quinolínico (Fujino y cols., 2003). A diferencia del resto de estatinas la glucuronoconjugación de la pitavastatina tiene igual o mayor contribución en su metabolismo que su oxidación mediada por los CYPs (Uno y cols., 2007).

El principal metabolito en plasma es su lactona que coexiste en equilibrio con la pitavastatina. Los metabolitos oxidativos de la pitavastatina son el 8-hidroxi (M-13) y el 5-ceto (M-3) (**Figura 1.12**). El 8-hidroxi (M-13) es el derivado oxidativo mayoritario de la pitavastatina (16%) y su formación está catalizada por el CYP2C9 con escasa contribución del CYP2C8. En cambio, los CYP3A4/5 son los que catalizan la formación del derivado 5-ceto (M-3). La glucuronoconjugación de la pitavastatina está catalizada fundamentalmente por dos UGTs (UGT1A3 y UGT2B7), aunque cuenta también con la escasa contribución de otras tres (UGT1A1, UGT1A4 y UGT1A6). La formación de 1-O-acil- β -D-glucurónido (UM-2) de pitavastatina es dos veces superior a la formación de su derivado 8-hidroxi (M-13). El UM-2 es un producto intermediario que da lugar a la lactona de pitavastatina. Su oxidación catalizada por los CYP3A4/5 para dar lugar al 5-ceto-lactona (M-3 lactona) y en menor medida da lugar al derivado 8-hidroxi-lactona (M-13 lactona) en cuya formación se cree interviene el CYP2D6 (Fujino y cols., 2003). Por hidrólisis espontánea la 8-hidroxi-lactona (M-13 lactona) al igual que la lactona de pitavastatina pueden dar lugar al derivado 8-hidroxi (M-13) y a la pitavastatina, respectivamente. La lactona de pitavastatina, también puede sufrir glucuronoconjugación directa dando lugar a un derivado éter-glucurónido. El derivado 5-ceto (M3) de pitavastatina, también puede ser glucuronoconjugado dando lugar a un acil-glucurónido. Los principales metabolitos que se detectan en orina son los glucuronoconjugados de la pitavastatina y su lactona, la propia pitavastatina y su lactona representando al 4% y menos del 2% de la dosis administrada, respectivamente (Garcia y cols., 2003).

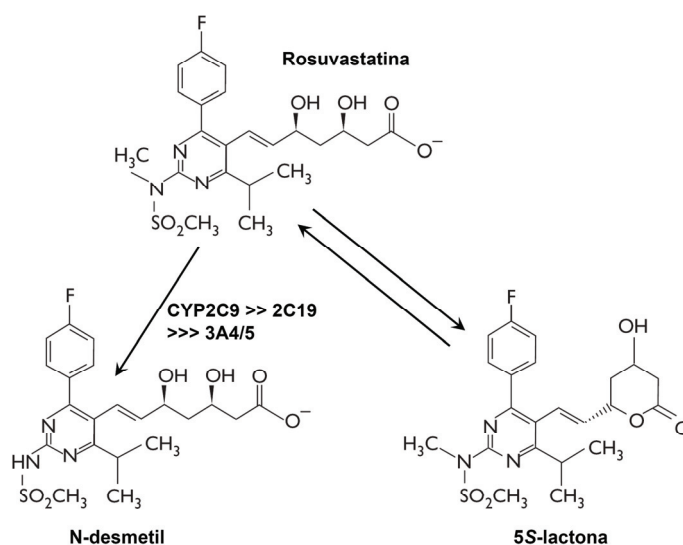


Figura 1.13. Principales vías metabólicas de la rosuvastatina (Modificada de Martin y cols., 2003).

• Rosuvastatina

La rosuvastatina se caracteriza por ser una de las estatinas, junto con pitavastatina y pravastatina, que menos metabolismo de primer paso sufren (**Figura 1.4**) y la que posee la mayor biodisponibilidad oral (75%). Estudios *in vitro* demostraron que su metabolismo es escaso y muy lento (en tres días sólo entre un 5 y un 50% de la rosuvastatina es metabolizada por hepatocitos humanos en cultivo) (Martin y cols., 2003). Los únicos y escasos metabolitos que se han podido identificar son el N-desmetil y el 5S-lactona (Olsson y cols., 2002). La formación del N-desmetil está catalizada principalmente por el CYP2C9 con escasa participación del CYP2C19 y mínima, si alguna, de los CYP3A4/5 (García y cols., 2003; Martin y cols., 2003) (**Figura 1.13**). El derivado N-desmetil posee solo el 17% de la actividad inhibidora de la rosuvastatina. Junto con el 5S-lactona representan el 30% de la dosis de rosuvastatina eliminada en orina y menos del 10% de la eliminada por vía biliar.

1.3.1.4.- Eliminación

Las principales vías de eliminación de las estatinas son la biliar y la renal, aunque la cantidad eliminada por cada una de ellas varía de una estatina a otra (**Tabla 1.3**). La mayor parte de los hidroxiácidos y de las lactonas de las estatinas, al igual que sus metabolitos, tanto activos como inactivos, son excretados por vía biliar y solo una parte minoritaria por vía renal. La pravastatina es la excepción al ser excretada entre un 20 y un 44% por vía renal debido a su mayor hidrosolubilidad. La

excreción por vía biliar contribuye a la eliminación del 90% de la rosuvastatina y pitavastatina, del 80% de la simvastatina, y del 70% de la lovastatina, atorvastatina y cerivastatina. En cambio, sólo el 66% y el 68% de la pravastatina y la fluvastatina, respectivamente, son eliminados por vía biliar.

1.3.2.- Farmacocinética

1.3.2.1.- Parámetros farmacocinéticos de las estatinas

En la **Tabla 1.3** se describen los parámetros farmacocinéticos de las distintas estatinas, tanto de sus lactonas como de sus hidroxiácidos (Corsini y cols., 1999). Los parámetros cinéticos, tales como, la concentración máxima (C_{\max}), el tiempo en el que se alcanza (T_{\max}), la vida media de eliminación ($t_{1/2}$) y el área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas versus el tiempo (AUC_t) de los hidroxiácidos y de las lactonas han sido descritos para la mayoría de estatinas (Wierzbicki y cols., 2003). La única excepción es la fluvastatina los parámetros cinéticos de cuya lactona hasta la fecha no han sido publicados. En la **Tabla 1.3** se describen, así mismo, el volumen de distribución aparente (V_d/F) y el aclaramiento aparente (CL/F) de las lactonas de lovastatina y simvastatina, y de los hidroxiácidos del resto de estatinas, al igual que su unión a proteínas plasmáticas, excreción biliar y renal (García y cols., 2003; Shitara y cols., 2006)

1.3.2.2.- Modelo farmacocinético de las estatinas basado en datos fisiológicos (PBPK)

La descripción de la evolución de las concentraciones plasmáticas de los fármacos en función del tiempo se ha realizado tradicionalmente mediante modelos no compartimentales o compartimentales empíricos. En éstos últimos, la disposición del fármaco es caracterizada como la transferencia del fármaco entre hipotéticos compartimentos interconectados con los que se pretende mimetizar los procesos de absorción, distribución y eliminación a los que es sometido. Sin embargo, estos modelos son de escasa utilidad para la extrapolación de sus resultados entre especies o poblaciones debido a que no tienen en cuenta las diferencias fisiológicas. Especialmente, cuando distintos transportadores están implicados en el proceso de distribución del fármaco las diferencias en su expresión y actividad son un factor importante que añade más variabilidad y dificulta la extrapolabilidad entre especies (Nestorov, 2003; Lehman-McKeeman, 2008; Danhof y cols., 2007 y 2008). En cambio, los modelos farmacocinéticos basados en datos fisiológicos ("*Physiologically-Based Pharmacokinetic models*" o modelos *PBPK*) pretenden emular las vías y procesos fisiológicos que controlan las concentraciones del

fármaco en plasma y distintos tejidos permitiendo el análisis del efecto conjunto de un número considerable de procesos relacionados y facilitando la evaluación y cuantificación de la importancia de cada uno de ellos. En los modelos *PBPK* los compartimentos representan a órganos y tejidos de interés organizados e interconectados según sus relaciones anatómo-fisiológicas reales (Yates, 2006; Mager y cols., 2008). Otra característica importante de los modelos *PBPK* es la distinción en la caracterización de la disposición entre parámetros relacionados con el fármaco y relacionados con el sistema biológico. De modo que los parámetros específicos del fármaco describen su interacción con el sistema biológico (por ejemplo, su afinidad por enzimas metabolizadores o transportadores de fármacos), y a su vez, los parámetros del sistema biológico, el funcionamiento de éste (por ejemplo, el flujo sanguíneo en los distintos órganos y tejidos, la expresión y/o actividad de transportadores y enzimas metabolizadores). La estructura de los modelos *PBPK* es esencialmente la misma entre las distintas especies de mamíferos lo que facilita el escalamiento entre especies, además son los únicos con capacidad de predecir la exposición al fármaco en distintos órganos y tejidos (Willmann y cols., 2007; Espie y cols., 2009).

Hasta hace poco, la utilización de los modelos *PBPK* estaba restringida exclusivamente al descubrimiento y desarrollo de fármacos debido a su complejidad matemática y la necesidad de grandes cantidades de datos de concentraciones tisulares obtenidos de estudios *in vivo* en animales de experimentación. Sin embargo, los avances en la predicción del metabolismo hepático y la distribución tisular a partir de datos *in vitro* e *in silico* los ha hecho mucho más asequibles y atractivos. De este modo los modelos *PBPK* ofrecen la oportunidad de integrar parámetros clave procedentes de diferentes fuentes con el objetivo no sólo de estimar parámetros farmacocinéticos y predecir perfiles concentración-tiempo plasmáticos y tisulares, sino también ofrecer una visión global mecanicista de las propiedades del fármaco (Jones y cols., 2009) que permita modelar y simular los factores que contribuyen a la variabilidad en los procesos ADME y estimar su efectos en subgrupos de pacientes con características específicas más que su impacto en una persona “promedio” (Jamei y cols., 2009).

En la **Figura 1.14** se representa el modelo *PBPK* para las estatinas propuesto por Shitara y cols., (2006) del que solo describiremos sus componentes sin entrar en detalle de las ecuaciones matemáticas que lo integran. En función de la estatina administrada por vía oral, la entrada en el “sistema” puede ser en forma de lactona – como en el caso de la lovastatina y la simvastatina – o en forma de hidroxácido

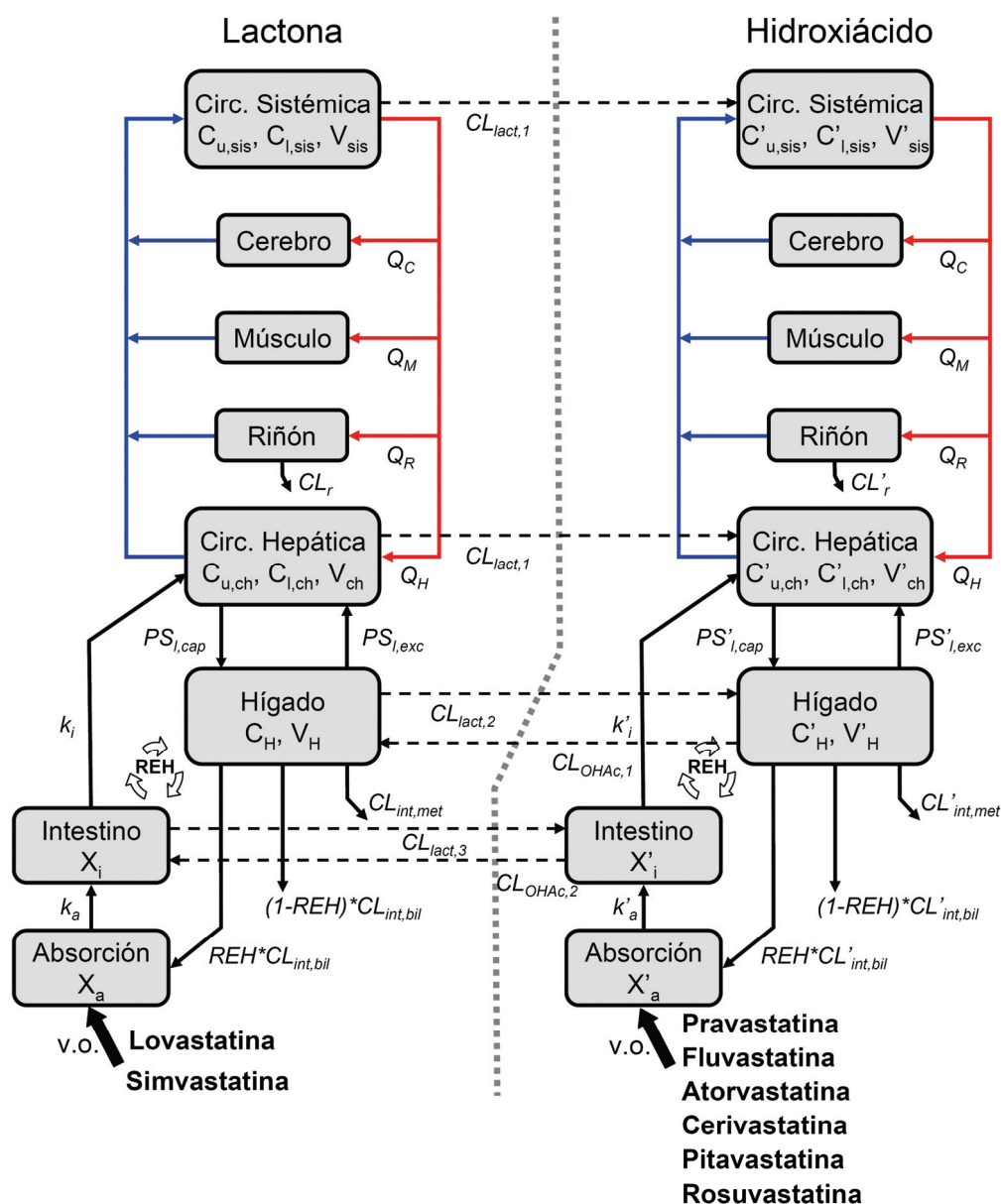


Figura 1.14. Modelo farmacocinético basado en datos fisiológicos (PBPK) de las estatinas (Modificada de Shitara y cols., 2006).

Abreviaturas:

- C_H (C'_H): concentración intrahepática de la lactona (del hidroxiácido);
- $C_{l, ch}$ ($C'_{l, ch}$): concentración libre de la lactona (del hidroxiácido) en la circulación hepática;
- $C_{l, sis}$ ($C'_{l, sis}$): concentración libre de la lactona (del hidroxiácido) en la circulación sistémica;
- $CL_{lact, 1}$, $CL_{lact, 2}$ o $CL_{lact, 3}$: aclaramiento de la lactona por conversión al hidroxiácido en el torrente circulatorio, el hígado o el intestino, respectivamente;
- $CL_{int, met}$ ($CL'_{int, met}$): aclaramiento intrínseco por metabolismo hepático de la lactona (del hidroxiácido);
- $CL_{OHAc, 1}$ o $CL_{OHAc, 2}$: aclaramiento del hidroxiácido por conversión a lactona en el hígado o el intestino, respectivamente;
- CL_r (CL'_r): aclaramiento renal de la lactona (del hidroxiácido);

- $C_{u,ch}$ ($C'_{u,ch}$): concentración unida a proteínas de la lactona (del hidroxiácido) en la circulación hepática;
- $C_{u,sis}$ ($C'_{u,sis}$): concentración unida a proteínas de la lactona (del hidroxiácido) en la circulación sistémica;
- k_a (k'_a): constante de absorción del lumen intestinal al enterocito;
- k_i (k'_i): constante de absorción de la pared intestinal a la circulación portal ;
- $PS_{l,exc}$ ($PS'_{l,exc}$): tasa de permeabilidad por excreción hepatocitaria de la fracción libre de la lactona (del hidroxiácido) a la circulación hepática;
- $PS_{l,cap}$ ($PS'_{l,cap}$): tasa de permeabilidad por captación hepatocitaria de la fracción libre de la lactona (del hidroxiácido);
- Q_c , flujo cerebral; Q_H , flujo hepático; Q_M , flujo muscular; Q_R , flujo renal;
- REH : recirculación enterohepática;
- $REH*CL_{int,bil}$ ($REH*CL'_{int,bil}$): fracción reabsorbida de la lactona (del hidroxiácido) tras su excreción biliar;
- $(1-REH)*CL_{int,bil}$ ($(1-REH)*CL'_{int,bil}$): aclaramiento intrínseco por excreción biliar de la fracción no reabsorbida de la lactona (del hidroxiácido);
- V_{ch} (V'_{ch}): volumen de distribución de la lactona (del hidroxiácido) en la circulación hepática;
- V_H (V'_H): volumen de distribución intrahepático de la lactona (del hidroxiácido);
- v.o.: administración por vía oral;
- V_{sis} (V'_{sis}): volumen de distribución de la lactona (del hidroxiácido) en la circulación sistémica;
- X_a (X'_a): cantidad total de lactona (de hidroxiácido) en el lumen intestinal disponible para ser absorbida por los enterocitos;
- X_i (X'_i): cantidad total de lactona (de hidroxiácido) en los enterocitos.

para el resto de estatinas. Aquí sólo describiremos el viaje por el organismo de las estatinas administradas en forma de lactona, aunque esta descripción es totalmente válida para las administradas en forma de hidroxiácido, ya que en el organismo ambas formas coexisten.

El modelo *PBPK* comienza con la cantidad total de lactona (X_a) presente en la luz intestinal disponible para ser absorbida por los enterocitos una vez liberada de la matriz de la formulación farmacéutica administrada. La fracción absorbida viene determinada por la constante de absorción (k_a) del lumen intestinal al enterocito. Una fracción de la cantidad total de lactona (X_i) que ha sido absorbida por los enterocitos es devuelta a la luz intestinal por excreción activa mediada por transportadores, otra es sometida al metabolismo de primer paso intestinal y, por último, una fracción es convertida en hidroxiácido ($CL_{lact,3}$). La fracción restante que alcanza la circulación portal viene determinada por la constante de absorción de la pared intestinal a la circulación portal (k_i). En la circulación portal una fracción de la lactona viaja unida a proteínas plasmáticas y otra lo hace en forma libre. Esta fracción no unida es la que está disponible para ser extraída por el hígado. Al igual que en la circulación sistémica la lactona libre puede ser transformada en hidroxiácido ($CL_{lact,1}$). La extracción hepática es un proceso dinámico que depende

del flujo hepático portal, la tasa de permeabilidad por captación hepatocitaria de la fracción libre de lactona ($PS_{l, cap}$), mediada por transportadores o por difusión pasiva, y la tasa de permeabilidad por excreción hepatocitaria a la circulación hepática ($PS_{l, exc}$) mediada, también, por transportadores o por difusión pasiva. Una vez en el interior del hepatocito una fracción de la lactona es transformada en hidroxilácido ($CL_{lact, 2}$), otra es metabolizada por las enzimas metabolizadoras de fármacos o es directamente excretada a la bilis por medio de transportadores. De esta forma, el aclaramiento hepático de la lactona es un proceso complejo en el que intervienen la captación y excreción sinusoidal, la subsiguiente transformación a hidroxilácido ($CL_{lact, 2}$), el metabolismo ($CL_{int, met}$) y/o la excreción al canalículo biliar ($CL_{int, bi}$). La mayor parte de la cantidad de lactona excretada a la bilis es eliminada con las heces ($(1-REH)*CL_{int, bi}$), sin embargo, una fracción sufre un proceso de recirculación enterohepática (REH) (Roberts y cols., 2002) por el cual es reabsorbida por los enterocitos ($REH*CL_{int, bi}$), alcanza la circulación portal y llega de nuevo al hígado. El hígado y la pared intestinal son los dos únicos sitios en el organismo donde la lactona puede ser hidrolizada a hidroxilácido y, a la vez, éste puede sufrir un proceso de lactonización dando lugar a la lactona. Dado que el sitio de acción de las estatinas es el hígado y su forma activa es el hidroxilácido la concentración intrahepatocitaria de éste sería el determinante del grado de inhibición competitiva de la HMG-CoA reductasa y, en definitiva, de su eficacia hipolipemiente final. Variaciones en la tasa de captación y/o excreción sinusoidal, metabolismo intrahepatocitario, excreción biliar, y transformación a hidroxilácido, en el caso de la lovastatina y la simvastatina, o lactonización, en el resto de estatinas, afectarían la concentración de hidroxilácido en los hepatocitos y, por consiguiente, inducir variaciones relevantes en el índice terapéutico de las estatinas.

La lactona unida a proteínas plasmáticas junto a la parte de la fracción libre no extraída por el hígado alcanza la circulación sistémica a partir de la cual la fracción no unida puede ser distribuida por el resto de órganos (músculo, riñón, cerebro) dependiendo del flujo sanguíneo (Q_M , Q_C , o Q_R , respectivamente) y de la captación o excreción mediada por transportadores o simplemente por difusión pasiva en cada uno de ellos. En el caso de las estatinas el aclaramiento extrahepático viene determinado por el aclaramiento renal cuya importancia en el cómputo del aclaramiento corporal total varía, como hemos visto, de unas a otras (**Tabla 1.3**). El aclaramiento renal, al igual que el hepático, es un proceso complejo integrado por filtración glomerular seguida de reabsorción y secreción tubular activa mediada por transportadores.

Hasta la fecha este modelo *PBPK* sólo ha sido utilizado por Watanabe y cols., (2009) para describir en humanos la disposición de la pravastatina. Primero obtuvieron el perfil cinético de pravastatina en hígado, riñón, músculo, cerebro y pulmón utilizando estudios *in vivo* en rata. Posteriormente, obtuvieron de estudios de transporte *in vitro* con hepatocitos y vesículas de membranas de canalículos biliares de rata los parámetros cinéticos de captación hepática y excreción biliar, respectivamente. Con estos datos calcularon los factores de escalamiento *in vitro* - *in vivo* para ratas necesarios para construir el modelo *PBPK* con el que simular la disposición sistémica y hepática de pravastatina en rata. Utilizando este modelo, los factores de escalamiento *in vitro* - *in vivo* de rata y los datos procedentes de estudios *in vitro* con hepatocitos humanos, finalmente, lograron construir el modelo *PBPK* de pravastatina en humanos. Con el modelo *PBPK* humano simularon el perfil cinético de pravastatina en plasma que compararon con los parámetros obtenidos en voluntarios sanos. Tras comprobar que el modelo describía razonablemente bien los resultados experimentales lo utilizaron para simular los cambios producidos en la concentración plasmática e intrahepatocitaria de pravastatina resultante de las variaciones en la captación hepática sinusoidal y excreción canalicular. En el modelo los autores asumen que la pravastatina es captada por el transportador *SLCO1B1* y excretada a la bilis por el transportador *ABCC2* (véase la **Figura 1.15** y el siguiente apartado) sin apenas sufrir metabolismo hepático sin ser excretada a los sinusoides hepáticos por otros transportadores, y que su distribución a los de órganos, a excepción del hígado, se realiza por difusión pasiva.

Las simulaciones se realizaron para estimar los cambios en el AUC plasmático e intrahepatocitario de pravastatina tras una dosis oral de 40 mg resultantes del aumento (200%) o reducción (70%) en la captación sinusoidal y la excreción biliar mediada por los transportadores *SLCO1B1* y *ABCC2*, respectivamente. El descenso del 70% en la actividad del transportador *SLCO1B1* indujo un aumento del 170% y una reducción del 32% en los respectivos AUC plasmático e intrahepatocitario de pravastatina. En cambio, el aumento del 200% en la actividad del mismo transportador produjo un descenso del 86% y un aumento sólo del 15% en el AUC plasmático e intrahepatocitario, respectivamente.

La reducción del 70% en la actividad del transportador *ABCC2* condujo a un aumento tanto en el AUC plasmático como en el intrahepatocitario del 43% y del 155%, respectivamente. En cambio, el aumento del 200% en la actividad del mismo transportador produjo descensos del 26% y del 62% en el AUC plasmático e intrahepatocitario, respectivamente. Los autores concluyen que los cambios en la

actividad del transportador *SLCO1B1* tendrían una repercusión importante en las concentraciones plasmáticas de pravastatina con una escasa influencia sobre las concentraciones intrahepatocitarias. En cambio, las variaciones en la actividad del transportador *ABCC2* tendrían una repercusión relevante en las concentraciones intrahepatocitarias de pravastatina con una escasa influencia sobre las concentraciones plasmáticas. Este estudio demuestra la utilidad de los modelos *PBPK* en el estudio de la influencia de los transportadores sobre parámetros cinéticos relevantes y de su potencial utilidad en el estudio de las interacciones de fármacos (Lam y cols., 2009).

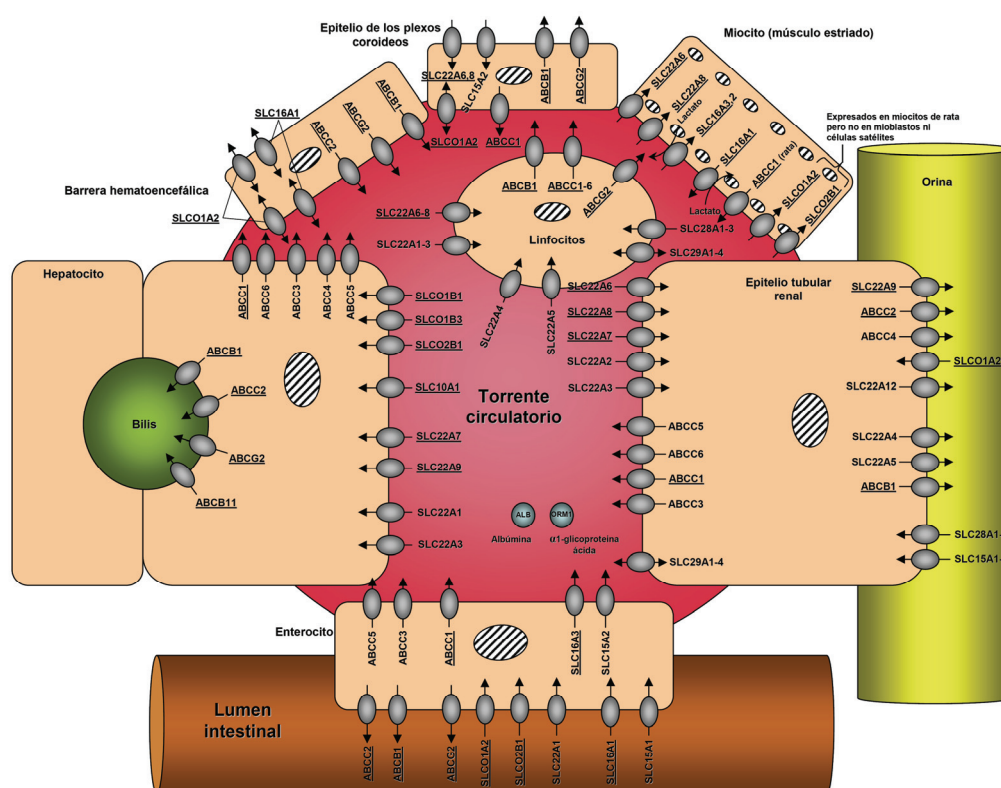


Figura 1.15. Localización de los principales transportadores de fármacos.

Se representa de forma esquemática la localización anatómica (intestino delgado, hígado, riñón, barrera hematoencefálica, plexos coroides y músculo estriado) y subcelular (membrana basolateral y apical) de los principales transportadores de endo y xenobióticos implicados en los procesos ADME. Se indica, así mismo, el sentido del proceso de transporte en cada uno de ellos al igual que el símbolo oficial del gen según el HGNC [*HUGO (The Human Genome Organization) Gene Nomenclature Committee*; <http://www.genenames.org>] que los codifica. Los genes cuyos símbolos están subrayados son con los que las distintas estatinas interactúan como sustratos o inhibidores (para más detalles véase la **Tabla 1.4**).

1.3.2.3.- Transportadores de estatinas

Los transportadores son proteínas presentes en las membranas celulares que poseen múltiples dominios transmembrana y su función consiste en facilitar el paso a través de las bicapas lipídicas de iones y compuestos biosintetizados por el organismo (endobióticos) pero también de distintas sustancias que en condiciones normales no se encuentran en el organismo (xenobióticos) (Dobson y cols., 2008; Kusuhara y cols., 2009). La característica fundamental que diferencia el paso a través de las membranas celulares mediado por proteínas transportadoras de la difusión pasiva es su saturabilidad (Kitamura y cols., 2008a).

Desde el descubrimiento en 1976 de la glicoproteína-P (MDR1 o ABCB1) por Juliano y Ling (1976) y su importancia en la multiresistencia a antineoplásicos el interés por el estudio del papel de los transportadores en la disposición de fármacos ha ido aumentando progresivamente experimentando un crecimiento exponencial en la última década. Hasta la fecha se han identificado, en animales y humanos, más de 400 genes que codifican proteínas transportadoras de endo y xenobióticos (Kusuhara y cols., 2009). Las proteínas transportadoras se clasifican en dos grandes superfamilias, los transportadores de solutos ("SoLute Carrier" o *SLC*) (Hagenbuch y cols., 2004) y los transportadores con dominios de unión e hidrólisis de ATP ("ATP-Binding Cassette" o *ABC*) (Schinkel y cols., 2003; Rees y cols., 2009). La familia de los transportadores *SLC* contiene 364 genes clasificados en 48 subfamilias, mientras que la familia de los transportadores *ABC* incluye a 49 miembros organizados en 7 subfamilias. Los transportadores *SLC* realizan difusión facilitada (mecanismo *uniporter*: transporte de un compuesto por ciclo) o transporte activo secundario a favor de un gradiente electroquímico (mecanismo *symporter* o *antiporter*: transporte de dos o más compuestos por ciclo en la misma dirección o en la dirección opuesta, respectivamente), aunque el mecanismo de transporte exacto no ha sido completamente dilucidado en todos ellos. En cambio, los transportadores *ABC*, también llamados bombas transportadoras, utilizan la hidrólisis del ATP como fuente de energía para realizar un transporte activo primario estrictamente unidireccional (Balaz, 2009). La gran familia de los transportadores *SLC* se puede dividir, a su vez, en dos tipos: los *SLC* propiamente dichos que transportan típicamente aniones orgánicos de tipo I, cationes y zwitteriones, y los transportadores *SLC* de aniones orgánicos ("SoLute Carrier Organic anion transporters" o *SLCO*) (Hagenbuch y cols., 2008), también conocidos como polipéptidos transportadores de aniones orgánicos ("Organic Anion Transporting Polypeptides" o *OATP*), que transportan a aniones orgánicos de tipo II (Shugarts y cols., 2009). Los transportadores *SLC* con especial repercusión sobre la

Tabla 1.4. Transportadores de los que las estatinas son sustratos o inhibidores.

Transportador*	Lovastatina	Simvastatina	Pravastatina	Fluvastatina	Atorvastatina	Cerivastatina	Pitavastatina	Rosuvastatina
ABCB1	Sustrato (Lac) Inhibidor (Lac>Ohae)	Sustrato (Ohae>Lac) Inhibidor (Lac>Ohae)	Sustrato, Inhibidor	No sustrato	Inhibidor (Lac>Ohae)	Sustrato	Sustrato (Lac>Ohae)	Sustrato
ABCB11	?	?	Sustrato	No sustrato	?	No sustrato	No sustrato	?
ABCC1	?	?	?	?	?	?	?	Sustrato
ABCC2	Inhibidor (Lac>Ohae)	Inhibidor (Lac>Ohae)	Sustrato	No sustrato	Inhibidor (Lac>Ohae)	Sustrato	Sustrato (Lac>Ohae)	Sustrato
ABCG2	?	?	Sustrato, Inhibidor	Sustrato	?	Sustrato	Sustrato (Lac>Ohae)	Sustrato
SLC01A2	Inhibidor (Lac)	Inhibidor (Lac)	Sustrato	Sustrato	?	?	Sustrato (Ohae>>Lac)	Sustrato
SLC01B1	Inhibidor (Ohae>Lac)	Sustrato (Ohae>>Lac) Inhibidor (Ohae>Lac)	Sustrato, Inhibidor	Sustrato	Sustrato, Inhibidor (Ohae>>Lac)	Sustrato	Sustrato (Ohae>>Lac)	Sustrato
SLC01B3	?	?	Sustrato	Sustrato	?	?	Sustrato (Ohae>>Lac)	Sustrato
SLC02B1	Inhibidor (Lac)	No sustrato (Lac ni Ohae) Inhibidor (Lac)	Sustrato, Inhibidor	Sustrato	Sustrato, Inhibidor	Inhibidor	?	Sustrato
SLC10A1	?	?	?	?	?	?	Sustrato (Ohae>>Lac)	Sustrato
SLC10A2	?	?	?	?	?	?	?	No sustrato
SLC22A1	?	?	?	?	?	?	?	No sustrato
SLC22A6	?	Inhibidor (Lac)	No sustrato, Inhibidor	Inhibidor	?	?	?	?
SLC22A7	?	?	Inhibidor	?	?	?	?	?
SLC22A8	?	Inhibidor (Lac)	Sustrato	Inhibidor	?	?	Sustrato (Ohae>>Lac)	?
SLC22A9	?	?	Inhibidor	?	?	?	?	?
SLC16A1	?	?	Sustrato	?	Sustrato	?	?	?
SLC16A3	Sustrato (Ohae) Inhibidor (Ohae)	Sustrato (Ohae) Inhibidor (Ohae)	Sustrato, Inhibidor	Inhibidor	Inhibidor	Inhibidor	?	Inhibidor

* Representado por el símbolo oficial del nombre del gen según el HGNC [HUGO (The Human Genome Organization) Gene Nomenclature Committee; <http://www.genenames.org>] que lo codifica.

Lac, lactona;
Ohae, hidroxiácido;

?, relación desconocida ante la ausencia de estudios que la hallan investigado;

> o >>, mayor o mucho mayor afinidad por el transportador como sustrato o mayor potencia como inhibidor.

Las referencias de los estudios que describen a las distintas estatinas como sustratos o inhibidores de los transportadores se encuentran en el texto.

disposición de fármacos son los transportadores de aniones orgánicos (*OAT* o *SLC22A*), los de cationes orgánicos (*OCT* o *SLC22A*), los de cationes orgánicos electroneutros (*OCTN* o *SLC22A*), los transportadores equilibrativos de nucleósidos (*ENT* o *SLC29*), los concentrativos de nucleósidos (*CNT* o *SLC28*), los transportadores de ácidos biliares sodio-dependientes (*SLC10*), los transportadores de ácidos monocarboxílicos (*MCT* o *SLC16*), los transportadores de oligopéptidos (*PEPT* o *SLC15*), y por último, los *SLCO*. Dentro de la familia de los transportadores *ABC* destacan como involucrado en el transporte de fármacos: la glicoproteína-P (*MDR1* o *ABCB1*), la bomba exportadora de sales biliares (*BSEP* o *ABCB11*), las proteínas relacionadas con multiresistencia (*MRP1-6* o *ABCC1-6*) y la proteína relacionada con resistencia en el cáncer de mama (*BCRP* o *ABCG2*) (Schinkel y cols., 2003).

En la **Figura 1.15** se representa de forma esquemática la localización anatómica (células del intestino delgado, hígado, riñón, barrera hematoencefálica, plexos coroideos y músculo estriado) y subcelular (membrana basolateral y apical) de las principales proteínas transportadoras *SLC* y *ABC* implicadas en los procesos ADME de absorción, distribución y eliminación. Se indica, así mismo, el sentido del proceso de transporte (captación, excreción o bidireccional) en cada uno de ellos, al igual, que el símbolo oficial del gen que los codifica. Se identifican, también, los genes de los transportadores con los que las estatinas interactúan como sustratos o inhibidores. La naturaleza de interacciones puede verse resumida en la **Tabla 1.4** y será discutida a continuación para cada una de las estatinas por separado.

• Lovastatina

Los estudios disponibles hasta la fecha señalan que la lactona y el hidroxácido de la lovastatina son sustrato de los transportadores *ABCB1* y *SLC16A3*, respectivamente. Un estudio *in vitro* con células LLC-PK1 humanas que expresan *ABCB1* ha demostrado que la lactona es sustrato de este transportador (Kim y cols., 1999). En cambio, existen sólo evidencias indirectas procedentes de estudios con células mesangiales de rata (Nagasawa y cols., 2000 y 2002) y células renales bovinas (Nagasawa y cols., 2003) que sostienen que el hidroxácido de lovastatina es sustrato del transportador *SLC16A3*.

Numerosos estudios, en los que se han utilizado diferentes líneas celulares — 3T3-G185 y NIH-3T3-185 (Wang y cols., 2001a), células intestinales Caco-2 (Kim y cols., 1999) y células MDCK transfectados para expresar al transportador (Chen y cols., 2005a) — han demostrado que la lovastatina es inhibidora del transportador *ABCB1* y que la capacidad inhibidora de su lactona es superior a la de su

hidroxiácido (Chen y cols., 2005a). Del mismo modo, la lactona posee una capacidad inhibidora del transportador ABCC2 superior a la del hidroxiácido (Chen y cols., 2005a). En un estudio de inhibición del transportador SCLCO1A2, realizado con ovocitos de *Xenopus laevis* transfectados para expresar este transportador, se ha utilizado sólo lovastatina en forma de lactona demostrando su capacidad inhibidora (Cvetkovic y cols., 1999). En células MDCK II transfectadas para sobreexpresar al transportador SLCO2B1 la lactona de lovastatina ha demostrado, también, su capacidad inhibidora (Grube y cols., 2006). En cambio, el hidroxiácido de lovastatina ha demostrado mayor capacidad inhibidora que la lactona sobre el transportador SLCO1B1 en estudios con células 293c18 (Hsiang y cols., 1999), HeLa (Sandhu y cols., 2005) y HEK293 (Chen y cols., 2005a) transfectados para expresar este transportador. Por último, el hidroxiácido de lovastatina ha demostrado en estudios *in vitro* con células LLC-CD147/hMCT4-FLAG (Kobayashi y cols., 2005) una línea tumoral de rhabdomyosarcoma embrionario humano (RD) (Kobayashi y cols., 2006) inhibir el transporte del ácido láctico por el transportador SLC16A3. Entre las distintas estatinas su capacidad inhibidora del SLC16A3 se encuentra en el rango alto superior a la del hidroxiácido de simvastatina y cerivastatina superada únicamente por la de la fluvastatina y la atorvastatina.

- **Simvastatina**

Los estudios de transporte realizados con cuatro proteínas transportadoras de fármacos (ABCB1, SLCO1B1, SLCO2B1 y SLC16A3) demuestran que la imvastatina es sustrato de tres de ellos. Investigaciones con la línea celular LLC-PK1 que expresa el transportador ABCB1 demuestran que la simvastatina es sustrato de este transportador, siendo su hidroxiácido transportado con mayor afinidad que su lactona (Hochman y cols., 2004). No obstante, los estudios de inhibición con la misma línea celular muestran resultados opuestos (véase más abajo). Según los resultados de un estudio con células HEK293 transfectadas para expresar al transportador SLCO1B1, la simvastatina es sustrato de este transportador pero su hidroxiácido posee mayor afinidad por el transportador que su lactona (Kameyama y cols., 2005). Los estudios con células mesangiales de rata proporcionan evidencias indirectas de que el hidroxiácido de la simvastatina es sustrato del transportador SLC16A3 (Nagasawa y cols., 2000). En cambio, los estudios de transporte con células MDCK II transfectadas para sobreexpresar al transportador SLCO2B1 demuestran que la simvastatina, tanto su lactona como su hidroxiácido, no es sustrato de este transportador (Grube y cols., 2006).

Los estudios de inhibición del transportador ABCB1 realizados con las líneas celulares 3T3-G185 y NIH-3T3-G185 (Wang y cols., 2001a), las células intestinales

Caco-2 (Hochman y cols., 2004), y las células MDCK transfectadas para expresar este transportador (Chen y cols., 2005a) muestran resultados opuestos a los obtenidos en los estudios de transporte. El hidroxiácido de simvastatina posee mayor capacidad inhibidora de ABCB1 que la lactona, en cambio, ésta última es transportada con mayor afinidad. Esta discordancia subraya la necesidad de los estudios de transporte, más difíciles de realizar, a la hora de considerar que un fármaco es transportado por un determinado transportador y del riesgo de aceptar como sustrato solo en base de su capacidad de inhibir de forma competitiva el transporte de sustratos conocidos del transportador. Estudios de inhibición con células MDCK transfectadas para expresar al transportador ABCC2 demuestran que la lactona de simvastatina posee mayor capacidad inhibidora de este transportador que su hidroxiácido (Chen y cols., 2005a). La lactona de simvastatina es capaz de inhibir al transportador Slco1a2 de rata en ovocitos de *Xenopus laevis* transfectados para expresar a este transportador lo que sugiere que podría ser también inhibidor del transportador SLC01A2 en humanos (Tokui y cols., 1999). Los resultados de estudios de inhibición con células 293c18 (Hsiang y cols., 1999) y HEK293 (Chen y cols., 2005a) transfectadas para expresar al transportador SLC01B1 demuestran que la simvastatina es inhibidor de este transportador y que la capacidad inhibidora de su hidroxiácido es mucho mayor que la de su lactona. En células MDCK II transfectadas para sobreexpresar al transportador SLC02B1, sólo la lactona de simvastatina posee capacidad inhibidora sobre este transportador (Grube y cols., 2006). Así mismo, sólo la lactona de simvastatina es inhibidora de los transportadores SLC22A6 y SLC22A8 en células tubulares renales del segundo segmento (S2) del túbulo contorneado proximal humano (Takeda y cols., 2004). Por último, el hidroxiácido de simvastatina ha demostrado, en estudios *in vitro* con células LLC-CD147/hMCT4-FLAG (Kobayashi y cols., 2005) y una línea tumoral de rabdomiosarcoma embrionario humano (RD) (Kobayashi y cols., 2006), inhibir el transporte del ácido láctico por el transportador SLC16A3. Entre las distintas estatinas su capacidad inhibidora del SLC16A3 es inferior a la del hidroxiácido de lovastatina, atorvastatina y fluvastatina, y sólo superior a la de la cerivastatina.

- **Pravastatina**

La pravastatina es la estatina cuyas interacciones con los transportadores de fármacos han sido las más extensamente estudiadas. Hasta la fecha sus interacciones han sido investigadas con catorce proteínas transportadoras de fármacos y en once de ellas se ha demostrado que son capaces de transportarla.

El balance de pruebas proporcionadas por los estudios *in vitro* a favor (Matsushima y cols., 2005) y en contra (Wang y cols., 2001a; Bogman y cols., 2001; Sakaeda y

cols., 2002; Chen y cols., 2005a) sugiere que la pravastatina es sustrato del transportador ABCB1 pero de moderada afinidad. La pravastatina es la única estatina, a diferencia de las otras tres (fluvastatina, cerivastatina y pitavastatina) (véase **Tabla 1.4**) estudiadas, que ha demostrado (en vesículas de membranas de células HEK293) ser sustrato del transportador ABCB1 (Hirano y cols., 2005). Varios estudios con células MDCK II doblemente transfectadas para expresar al los transportadores SLCO1B1 y ABCG2 han demostrado que la pravastatina es transportada por éste último (Matsushima y cols., 2005; Hirano y cols., 2005). Así mismo, en estudios con células MDCK II doblemente transfectadas para expresar, este caso, a los transportadores SLCO1B1 y ABCC2 han demostrado que la pravastatina es sustrato de elevada afinidad de éste último (Sasaki y cols., 2002; Matsushima y cols., 2005). De esta forma podemos concluir que la pravastatina es sustrato de los tres transportadores (ABCB1, ABCG2 y ABCC2) pero que es transportada preferentemente por el ABCC2 y con mucha menor afinidad por ABCB1 y ABCG2. Los estudios de transporte con células 293c18 transfectadas para expresar al transportador SLCO1A2 humano y de rata demuestran que la pravastatina es sustrato de ambos (Hsiang y cols., 1999). Estos resultados fueron confirmados también con ovocitos de *Xenopus laevis* transfectados para expresar al transportador SLCO1A2 de rata (Tokui y cols., 1999) al igual que con miocitos de músculo estriado de rata (Sakamoto y cols., 2008) que expresan de forma constitutiva a este transportador que no se expresa en la línea celular L6 de mioblastos ni en células satélites. Este diferente patrón de expresión del transportador SLCO1A2 entre los diferentes tipos de células musculares explicaría las discrepancias existentes entre los estudios *in vitro* de toxicidad que utilizan miocitos o mioblastos (Sakamoto y cols., 2008) y concretamente la marcada citotoxicidad causada por la pravastatina sobre los primeros, en cambio la ausencia de tal efecto sobre los segundos. Son varios los estudios de transporte con diferentes líneas celulares — células 293c18 (Hsiang y cols., 1999), ovocitos de *Xenopus laevis* transfectados (Nakai y cols., 2001), células MDCK II doblemente transfectadas (Matsushima y cols., 2005) y células HEK293 (Kameyama y cols., 2005) — que demuestran que la pravastatina es un sustrato de alta afinidad del transportador SLCO1B1. Los estudios de transporte con células HEK293 demuestran que la pravastatina, también, es sustrato del transportador SLCO2B1 (Kobayashi y cols., 2003; Nozawa y cols., 2004). En cambio, no es transportada por los transportadores SLC22A6 y SLC22A8 de rata (Hasegawa y cols., 2002) ni humano (Takeda y cols., 2004). Y sólo existen evidencias indirectas de que podría ser transportada por el transportador SLC16A1 humano (Tamai y cols., 1995) y el SLC16A4 de rata (Nagasawa y cols., 2000).

La pravastatina ha demostrado ser inhibidor de los transportadores ABCB1 y ABCC2 en células MDCK (Chen y cols., 2005a), del transportador ABCG2 en vesículas de membranas de células P388 transfectadas para expresarlo (Suzuki y cols., 2003), del transportador SLC01B1 en células HEK293 (Chen y cols., 2005a), y del transportador SLC02B1 en células MDCK II que lo sobreexpresan (Grube y cols., 2006). La pravastatina, también, inhibe al transportador SLC22A6 de rata, en células LLC-PK1 transfectadas para expresarlo (Hasegawa y cols., 2002), y al SLC22A6 humano, en células tubulares renales del segundo segmento (S2) del túbulo contorneado proximal (Khamdang y cols., 2004). Es también inhibidor de los transportadores SLC22A7 (Khamdang y cols., 2004) y SLC22A8 (Khamdang y cols., 2004; Ohtsuki y cols., 2004) humano y el de rata, al igual que del transportador SLC22A9 humano (Khamdang y cols., 2004). Por último, la pravastatina es la estatina que con menor afinidad inhibe al transporte de ácidoláctico por el transportador SLC16A3 (Kobayashi y cols., 2005; Kobayashi y cols., 2006).

• Fluvastatina

La fluvastatina no es transportada por los transportadores ABCB1 (Scripture y cols., 2001), ABCB11 (Hirano y cols., 2005) y ABCC2 (Kopplow y cols., 2005), a diferencia del resto de estatinas que interactúan con estos transportadores, bien como sustratos o como inhibidores (véase **Tabla 1.4**). En células MDCK II doblemente transfectadas ha demostrado ser sustrato del transportador ABCG2 humano (Hirano y cols., 2005). Las evidencias indirectas existentes hasta la fecha señalan que es sustrato del transportador SLC01A2 de rata (Sakamoto y cols., 2008). Varios estudios con distintas líneas celulares (Hsiang y cols., 1999; Kopplow y cols., 2005; Noe y cols., 2007) han demostrado que la fluvastatina es sustrato de los transportadores SLC01B1, SLC01B3 y SLC02B1, sin embargo, dada su mayor afinidad, es transportada preferentemente por SLC02B1 y SLC01B1, dependiendo del nivel de expresión del primero (Kopplow y cols., 2005), y en menor medida por el SLC01B3.

Los estudios de inhibición en células tubulares renales del segundo segmento (S2) del túbulo contorneado proximal humano señalan que la fluvastatina es inhibidor de los transportadores SLC22A6 y SLC22A8 (Takeda y cols., 2004). Por último, en estudios *in vitro* con células LLC-CD147/hMCT4-FLAG (Kobayashi y cols., 2005) y una línea tumoral de rabdomiosarcoma embrionario humano (RD) (Kobayashi y cols., 2006), la fluvastatina ha demostrado ser la estatina con mayor capacidad inhibidora del transporte de ácido láctico por el transportador SLC16A3.

- **Atorvastatina**

Los estudios de transporte señalan que la atorvastatina es sustrato del transportador SLC01B1 en células HEK293 (Kameyama y cols., 2005) y del SLC02B1 en células MDCK II que lo sobreexpresan (Grube y cols., 2006) al igual que en plaquetas humanas (Niessen y cols., 2009), presentando alta afinidad por este último. Además, existen evidencias indirectas que apuntan a que es sustrato del transportador SLC16A1 (Wu y cols., 2000).

La fluvastatina ha demostrado inhibir a los transportadores ABCB1 (Wang y cols., 2001b; Chen y cols., 2005a) y ABCC2 (Chen y cols., 2005a), sin embargo, la capacidad inhibidora de su lactona es superior a la de su hidroxiácido. En cambio, es su hidroxiácido el que posee mayor capacidad inhibidora sobre el transportador SLC01B1 (Hsiang y cols., 1999; Chen y cols., 2005a). La fluvastatina, también, inhibe al transportador SLC02B1 (Grube y cols., 2006; Niessen y cols., 2009), aunque se desconoce si existen diferencias entre la capacidad inhibidora de su lactona y su hidroxiácido. Por último, en estudios *in vitro* con células LLC-CD147/hMCT4-FLAG (Kobayashi y cols., 2005) y una línea tumoral de rhabdomyosarcoma embrionario humano (RD) (Kobayashi y cols., 2006), la atorvastatina ha demostrado inhibir el transporte del ácido láctico por el transportador SLC16A3. Entre las distintas estatinas su capacidad inhibidora del SLC16A3 se encuentra en el rango alto superior precedida únicamente por la fluvastatina.

- **Cerivastatina**

Los estudios de transporte *in vitro* han demostrado que la cerivastatina es sustrato de los transportadores ABCB1 (Kivisto y cols., 2004b; Matsushima y cols., 2005), ABCC2 (Matsushima y cols., 2005), ABCG2 (Matsushima y cols., 2005; Hirano y cols., 2005) y SLC01B1 (Matsushima y cols., 2005; Kameyama y cols., 2005), y que no es transportada por el transportador ABCB11 (Hirano y cols., 2005).

Dos son sólo los transportadores que la cerivastatina inhibe: el SLC02B1 (Grube y cols., 2006) y el SLC16A3 (Kobayashi y cols., 2005; Kobayashi y cols., 2006). En el caso de este último su potencia inhibidora es baja encontrándose en el rango inferior de las estatinas superando sólo al de la rosuvastatina y pravastatina.

- **Pitavastatina**

Los estudios de transporte *in vitro* demuestran que la pitavastatina es transportada por los siguientes transportadores: el ABCB1 (como sustrato débil) (Fujino y cols., 2005), el ABCC2 (Hirano y cols., 2005) y el ABCG2 (Hirano y cols., 2005), presentando su lactona mayor afinidad por los transportadores que su hidroxiácido

(Fujino y cols., 2005). En cambio, no es sustrato del transportador ABCB11 (Hirano y cols., 2005). La pitavastatina, también, es sustrato de los siguientes transportadores: el SLCO1A2 (Fujino y cols., 2005; Franke y cols., 2009), el SLCO1B1 (Hirano y cols., 2004; Fujino y cols., 2005), el SLCO1B3 (Hirano y cols., 2004; Fujino y cols., 2005), el SLC10A1 (Fujino y cols., 2005) y el SLC22A8 (Fujino y cols., 2005). En todos ellos la afinidad de la lactona por los transportadores es muy inferior a la afinidad del hidroxiácido (Fujino y cols., 2005). Hasta la fecha no se han identificado transportadores con los que la pitavastatina interactúe como inhibidor.

- **Rosuvastatina**

Los estudios de transporte *in vitro* demuestran que la rosuvastatina es transportada principalmente por el transportador ABCC2 seguido en importancia muy de cerca por el ABCB1 y por el ABCG2 con una aportación mínima (Hirano y cols., 2005; Kitamura y cols., 2008b). Existen evidencias indirectas que sugieren que la rosuvastatina podría ser transportada, también, por el transportador ABCC1 en miocitos de músculo estriado de rata (Dorajoo y cols., 2008). La rosuvastatina ha demostrado ser sustrato, también, de los transportadores SLC10A1 y SLCO1A2 (Ho y cols., 2006), y SLCO1B1, SLCO1B3 y SLCO2B1 (Ho y cols., 2006; Kitamura y cols., 2008b). La contribución de los tres últimos ha podido ser evaluada *in vitro* y las estimaciones señalan que el SLCO1B1 es el principal transportador de responsable del 70-80% del transporte de rosuvastatina, el SLCO1B3 es el segundo en importancia con el 20-30% y la contribución del SLCO2B1 es mínima (<1%) (Ho y cols., 2006; Kitamura y cols., 2008b). Las evidencias experimentales indican que la rosuvastatina no es sustrato de los transportadores SLC10A2 y SLC22A1 (Ho y cols., 2006) y que posee una escasa capacidad inhibidora del transportador SLC16A3 (Kobayashi y cols., 2005; Kobayashi y cols., 2006).

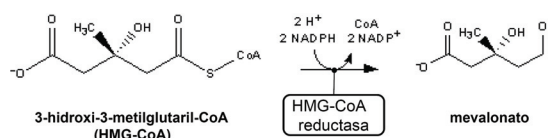
1.4.- Farmacodinamia y mecanismo de acción

La farmacodinamia estudia el curso temporal de los efectos biológicos de los fármacos y sus mecanismos de acción, en pocas palabras, los efectos de los fármacos sobre el organismo. En el caso de las estatinas se pueden distinguir dos tipos de efectos, el que ejercen sobre los lípidos (efecto hipolipemiante) y sus acciones antiinflamatorias (efectos pleiotrópicos).

1.4.1.- Efecto hipolipemiante

El mecanismo de acción de las estatinas consiste en inducir una inhibición competitiva, reversible y parcial de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa, enzima que cataliza el paso limitante en la biosíntesis endógena de colesterol. Al disminuir ésta, se induce la expresión de receptores para las LDL descendiendo la concentración plasmática de colesterol LDL por aumento de su catabolismo. También se reduce la producción hepática del colesterol VLDL (efecto hipotrigliceridemiante), contribuyendo al descenso de las LDL por falta de partículas precursoras (Pahan, 2006).

La forma catalíticamente activa de la HMG-CoA reductasa humana localizada a nivel del retículo endoplasmático es un homotetrámero (**Figura 1.16**) constituido por dos dímeros cada uno de los cuales contiene dos sitios catalíticos formados por los residuos de los distintos monómeros (Istvan y cols., 2000a y 2000b). El paso que de la biosíntesis endógena de colesterol que cataliza es el siguiente (Holdgate y cols., 2003):



En el que una molécula de HMG-CoA se reduce mediante la actuación de la HMG-CoA reductasa y la coenzima NADPH dando como resultado mevalonato y CoA. La inhibición de las estatinas se realiza de forma competitiva, parcial y reversible. Las estatinas ejercen su inhibición compitiendo con la HMG-CoA por su sitio de unión pero no interfieren con la unión del NADP (Istvan y cols., 2003). Estudios *in vitro* utilizando el fragmento catalítico recombinante de la HMG-CoA reductasa humana (fragmento peptídico que contiene los aminoácidos 419-888 del monómero y que en solución forma homotetrámeros activos) han investigado la afinidad de las estatinas por su diana terapéutica (Istvan y cols., 2001; McTaggart y cols., 2001; Holdgate y cols., 2003).

En la **Tabla 1.5** se presenta la concentración a la que se obtiene el 50% de la inhibición de la HMG-CoA reductasa (IC_{50}) con cada una de las estatinas. En general, todas las estatinas son inhibidores competitivos potentes ya que sus IC_{50} ($IC_{50} = 3.5\text{-}44\text{ nM}$) son más de 90 veces más bajos que la constante metabólica de la HMG-CoA ($K_m = 4\text{ }\mu\text{M}$). Las estatinas con IC_{50} más altas son las que poseen menor afinidad y por tanto menor capacidad de inhibición competitiva. El orden de potencia inhibitoria comparativa entre las estatinas de menor a mayor sería el siguiente: pravastatina, fluvastatina, lovastatina, simvastatina, cerivastatina, atorvastatina, pitavastatina y, como la más potente, la rosuvastatina. La mayor afinidad inhibitoria de la rosuvastatina se debe a la interacción polar entre su grupo sulfónico electronegativo de su anillo central pirimidínico (véase **Figura 1.3**, pág. 11) y la cadena lateral de la arginina 568 de la HMG-CoA reductasa (Istvan y cols., 2003). Sin embargo, un estudio más reciente utilizando la misma técnica ha aportado pequeños cambios en el orden de potencias (Carbonell y cols., 2005). Según sus hallazgos, la estatina con la IC_{50} más alta sería la fluvastatina en lugar de la pravastatina y la cerivastatina tendría una IC_{50} más baja que la atorvastatina.

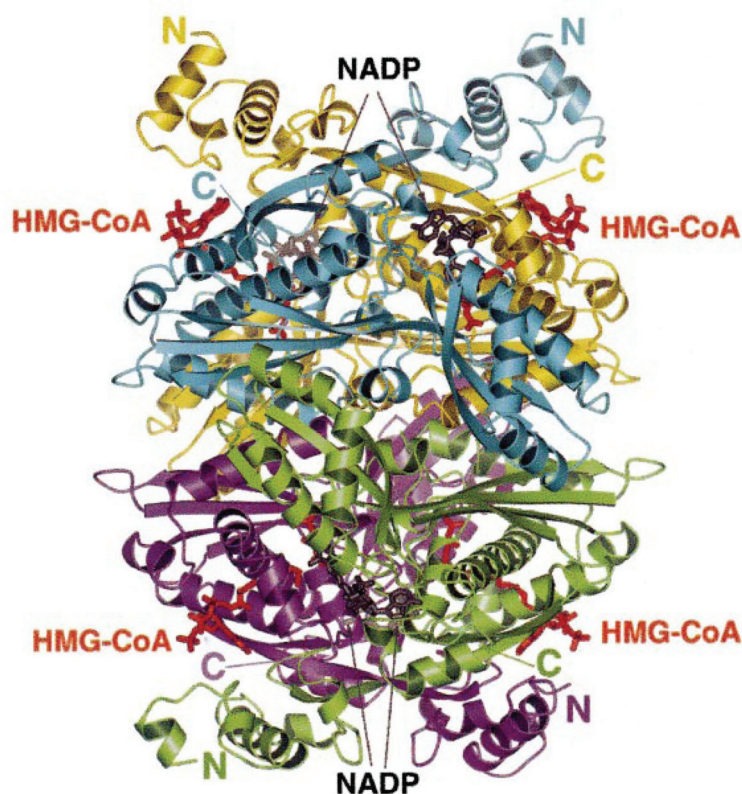


Figura 1.16 Estructura 3D de la HMG-CoA reductasa humana.

Los cuatro monómeros están coloreados en amarillo, azul, verde y morado. El tetrámero está constituido por dos dímeros; el dímero 1 formado por los monómeros amarillo y azul, y el dímero 2 formado por los monómeros verde y morado. En cada dímero se indican los sitios de unión de las moléculas de HMG-CoA

y NADP representados en rojo y negro, respectivamente. Se muestran los extremos carboxi- (C) y el N-terminal (N) se muestran en el color correspondiente de cada monómero. (Fuente: Istvan y cols., 2000b).

Se trata de la inhibición que se obtendría con cada una de las estatinas si todas ellas alcanzaran la misma concentración intrahepatocitaria para interactuar en igualdad de condiciones con su diana terapéutica, la HMG-CoA reductasa. Como veremos en el siguiente apartado el orden de potencia inhibitoria absoluta no se corresponde exactamente con el resultante de su relación dosis-respuesta ya que éste último incorpora las diferencias en disposición entre las estatinas.

Tabla 1.5. IC₅₀ de las estatinas.		
Estatina	IC₅₀ (nM)	IC95%
Rosuvastatina	3.5	(2.5 – 5)
Pitavastatina	6.8	n.d.
Atorvastatina	8	(6 – 12)
Cerivastatina	10	(7 – 15)
Simvastatina	11	(7 – 17)
Lovastatina	23	n.d.
Fluvastatina	28	(18 – 42)
Pravastatina	44	(29 – 66)

IC₅₀: la concentración inhibitoria 50, la concentración a la que se obtiene el 50% de la inhibición del fragmento catalítico recombinante de la HMG-CoA humana (a.a. 419-888);

IC95%: intervalo de confianza al 95%;

n.d.: no disponible;

Fuente: Aoki y cols., 1997; Istvan y cols., 2001; Holdgate y cols., 2003.

1.4.2.- Efectos pleiotrópicos

Actualmente, además de la disminución de la concentración de colesterol, a las estatinas se le atribuyen acciones pleiotrópicas con actividad sobre mecanismos hemostáticos, inhibición de la migración y proliferación de las células musculares lisas, modificación de la actividad monocitaria, inmunomodulación y aumento de las acciones mediadas por el óxido nítrico (influjo sobre la disfunción endotelial y sobre la expresión de la endotelina-1) (Pahan, 2006). Se les atribuye también un efecto de disminución de la proteína C reactiva y, en general, una acción estabilizadora de la placa y de mejora de la circulación coronaria, originando efectos beneficiosos independientemente de su acción hipocolesterolemia (la interrupción del tratamiento en pacientes con síndrome coronario agudo puede empeorar el pronóstico respecto a los pacientes que continúan con estatinas o incluso respecto a aquellos que no las toman).

1.5.- Relación dosis-respuesta terapéutica y toxicidad

El establecimiento de una relación cinético dinámica de los parámetros cinéticos de las estatinas con su respuesta hipolipemiente o pleiotrópica es una tarea complicada. No obstante, aunque no se ha establecido una relación directa entre las concentraciones plasmáticas totales de cualquiera de las estatinas y su respuesta hipolipemiente, parece existir cierta relación directa entre la C_{\max} y el AUC de la concentración libre en plasma de atorvastatina, pravastatina, fluvastatina y cerivastatina, y su respuesta terapéutica evaluada como el porcentaje de descenso respecto a la basal del colesterol LDL (Shitara y cols., 2006).

1.5.1.- Dosis-respuesta del efecto hipolipemiente de las estatinas

Las estatinas producen una reducción dosis-dependiente de la cifra de colesterol total y de colesterol LDL, aunque la potencia por mg administrado varía de una estatina a otra, siendo las más potentes atorvastatina y rosuvastatina. Un metanálisis publicado en 2003 (Law y cols., 2003) evaluó el efecto dosis-respuesta de diferentes estatinas en la reducción del colesterol total y LDL. Se incluyeron 164 estudios a corto plazo (generalmente unas pocas semanas, 8 semanas de media) realizados con atorvastatina, fluvastatina, lovastatina, pravastatina, simvastatina y rosuvastatina, a diferentes dosis fijas. Estos estudios incluían alrededor de 24000 pacientes tratados con estatinas y 14000 con placebo. Todas las estatinas producen una disminución dosis-dependiente de la cifra de LDL. Las reducciones observadas oscilan entre el 10% para 5 mg de fluvastatina hasta el 58% de reducción observado con rosuvastatina 80 mg, una reducción que fue significativa respecto de la basal para todas las concentraciones basales. Simvastatina 40 mg/día, lovastatina 40 mg/día y atorvastatina 10 mg/día disminuyen la cifra de colesterol alrededor de un 37%, cualquiera que sea la concentración basal de colesterol. Un aspecto a resaltar es que las reducciones absolutas fueron mayores en aquellos pacientes con mayores concentraciones basales. Se observó una correlación ($r=0.83$) en las reducciones de colesterol LDL y colesterol total, de manera que una reducción en la cifra de LDL de 1.0 mmol/l (38.60 mg/dl) se asocia con una reducción del colesterol total de 1.20 mmol/l (46.32 mg/dl). En el caso de que se disponga solo de la reducción de los niveles de colesterol total, la reducción absoluta esperable en los niveles de LDL sería un 17% inferior.

Sin embargo, en este metanálisis se utilizó un modelo de regresión lineal para representar a la relación dosis-respuesta cuando ésta en realidad sigue un patrón curvilíneo (relación menos que proporcional) siendo el efecto más pronunciado a dosis más bajas (véanse **Tablas 1.6** y **1.7**, y **Figura 1.17**). En las **Tablas 1.6** y

1.7, se puede ver la relación entre las dosis habituales y máximas de estatinas con los porcentajes de descenso respecto al valor basal en los niveles de LDL y colesterol total.

El orden de potencia inhibitoria absoluta (IC_{50}) no se corresponde exactamente con el orden resultante de su relación dosis-respuesta *in vivo* ya que éste último incorpora las diferencias en disposición entre las estatinas (véanse **Tablas 1.5** y **1.6**, y **Figura 1.4**, pág. 16).

Tabla 1.6. Descensos de LDL con dosis equivalentes de estatinas.*

Estatina	Porcentaje medio de descenso respecto a los niveles basales						
	27%	34%	41%	48%	55%	60%	65%
Fluvastatina	40 mg	80 mg					
Pravastatina	20 mg	40 mg					
Lovastatina	20 mg	40 mg	80 mg				
Simvastatina	10 mg	20 mg	40 mg	80 mg			
Cerivastatina	0.1 mg	0.2 mg	0.4 mg	0.8 mg			
Atorvastatina		10 mg	20 mg	40 mg	80 mg		
Pitavastatina		1 mg	2 mg	4 mg	8 mg		
Rosuvastatina			5 mg	10 mg	20 mg	40 mg	80 mg

* Las dosis referidas son las dosis diarias habituales y máximas autorizadas para cada estatina. La relación dosis-respuesta es curvilínea siendo el efecto más pronunciado a dosis bajas. *Fuente:* McClellan y cols., 1998; Stein, 2001; Siegel-Axel y cols., 2003; Kendrach y cols., 2004; Mukhtar y cols., 2005.

Tabla 1.7. Descensos de colesterol total con dosis equivalentes de estatinas.*

Porcentaje medio de descenso respecto a los niveles basales						
Estatina	22%	27%	32%	37%	42%	47%
Fluvastatina	40 mg	80 mg				
Pravastatina	20 mg	40 mg				
Lovastatina	20 mg	40 mg	80 mg			
Simvastatina	10 mg	20 mg	40 mg	80 mg		
Cerivastatina	0.1 mg	0.2 mg	0.4 mg	0.8 mg		
Atorvastatina		10 mg	20 mg	40 mg	80 mg	
Pitavastatina		1 mg	2 mg	4 mg	8 mg	
Rosuvastatina		5 mg	10 mg	20 mg	40 mg	80 mg

* Las dosis referidas son las dosis diarias habituales y máximas autorizadas para cada estatina. La relación dosis-respuesta es curvilínea siendo el efecto más pronunciado a dosis bajas. *Fuente:* McClellan y cols., 1998; Stein, 2001; Siegel-Axel y cols., 2003; Kendrach y cols., 2004; Mukhtar y cols., 2005.

Si las estatinas cuya potencia queremos comparar poseen una biodisponibilidad similar, como por ejemplo, lovastatina y simvastatina, las diferencias en la IC_{50} *in vitro* se mantienen *in vivo* (la simvastatina sigue siendo dos veces más potente que la lovastatina). También es posible que las diferencias en la biodisponibilidad hagan desaparecer las diferencias observadas *in vitro*, como por ejemplo en el caso de lovastatina y pravastatina. Lovastatina posee una IC_{50} dos veces más baja que

pravastatina (**Tablas 1.5**), sin embargo, la biodisponibilidad de ésta última es tres veces superior (**Figura 1.4**, pág. 16), por lo que *in vivo* ambas presentan una potencia similar (**Tablas 1.6**). Las diferencias en la biodisponibilidad pueden también generar diferencias en la potencia *in vivo* cuando *in vitro* las IC_{50} son similares. Tal es el caso de las parejas de estatinas: pitavastatina - atorvastatina y cerivastatina - simvastatina. Por último, la rosuvastatina es la estatina con mayor potencia inhibitoria tanto *in vitro*, como *in vivo* incluso más dado su favorable perfil cinético.

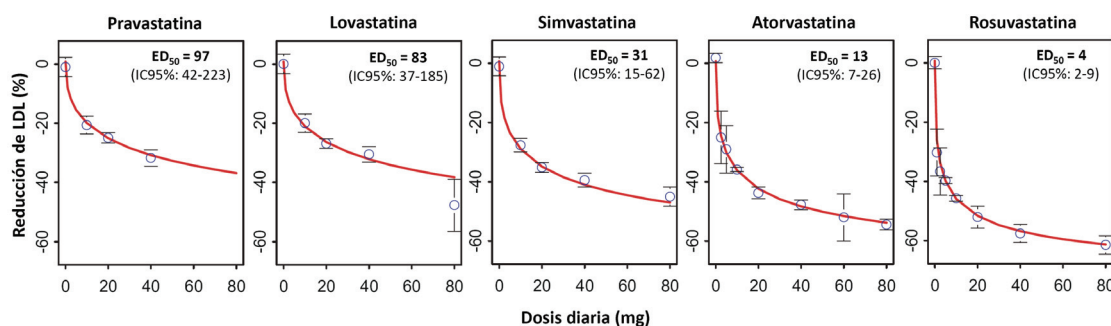


Figura 1.17. Relación dosis-respuesta en la monoterapia con estatinas (adaptada de Mandema y cols., 2005).

La relación entre la dosis diaria administrada por vía oral de estatina y el porcentaje de reducción respecto a los niveles basales de LDL sigue un patrón curvilíneo. Los círculos y las barras verticales representan a los valores medios poblacionales observados de porcentaje de reducción de LDL y a los intervalos de confianza al 95%, respectivamente. La línea roja representa al porcentaje medio de reducción de LDL predicho por el modelo sigmoideal del efecto máximo (E_{max}) utilizado por Mandema y cols., (2005) para caracterizar la relación dosis-respuesta de las estatinas.

Para la construcción de este modelo Mandema y cols., (2005) utilizaron los datos de 9886 pacientes tratados con diferentes dosis de cinco estatinas diferentes en el contexto de 21 ensayos clínicos aleatorizados (13 controlados con placebo y 3 realizados en voluntarios sanos) en los cuales se evaluó la eficacia hipolipemiente (porcentaje de reducción respecto a los niveles basales de LDL). La mediana de la duración del tratamiento fue de 12 semanas (rango: 4-16 semanas).

El modelo estructural utilizado es el siguiente:

$$Y = E_0 + E_{\text{estatina}} + \eta + \varepsilon \quad [1]$$

donde Y representa el porcentaje de cambio en los niveles de LDL respecto a la basal, E_0 es el cambio en los niveles de LDL en los pacientes no tratados (efecto placebo), E_{estatina} es el porcentaje de reducción en los niveles de LDL en los tratados con cada una de las estatinas, η es el efecto aleatorio de cada uno de los 21 ensayos clínicos analizados, y ε representa la variabilidad inter-individual.

La ecuación del modelo dosis-respuesta es el siguiente:

$$E_{\text{estatina}} = (Dosis^n \cdot E_{max}) / (Dosis^n + ED_{50}^n) \quad [2]$$

donde E_{max} es el porcentaje máximo de reducción de los niveles de LDL estimado a una dosis infinita de estatina, $Dosis$ es la dosis diaria en mg de estatina, ED_{50} es la dosis de estatina necesaria para conseguir el 50% de la reducción máxima de LDL (E_{max}), y n es el coeficiente de Hill.

El efecto hipolipemiente (porcentaje de reducción de LDL) máximo estimado (E_{max}) hipotéticamente alcanzable a una dosis de estatina infinitamente elevada fue de -79% (IC95%: -91 – -67) similar para las cinco estatinas analizadas, al igual que el coeficiente de Hill ($n = 0.45$, IC95%: 0.37 – 0.56). Sin embargo, la ED_{50} fue diferente reflejando la existencia de diferencias en la potencia entre las cinco estatinas. En la esquina superior derecha de la gráfica de cada una de las estatinas figura la dosis diaria (mg) a la que se alcanza el 50% del porcentaje de reducción máxima de LDL ($E_{max} = -79\%$, común a todas ellas) junto con su intervalo de confianza al 95% (IC95%).

1.5.2.- Dosis-respuesta de la miotoxicidad por estatinas

El mecanismo fisiopatológico de la miotoxicidad inducida por las estatinas no se conoce con exactitud pero se considera que está relacionado con la inhibición de la biosíntesis endógena de colesterol a nivel del músculo estriado.

A pesar de que en un modelo animal de miotoxicidad crónica por estatinas no se ha podido demostrar una relación directa con los parámetros farmacocinéticos (Sidaway y cols., 2009), los estudios *in vitro* en líneas celulares humanas de rabdomiosarcoma demuestran una relación entre la acumulación intracelular de las estatinas y la citotoxicidad inducida (Kobayashi y cols., 2008). Varios estudios *in vivo* realizados en humanos apoyan la relación entre la dosis, los niveles plasmáticos de estatinas y el riesgo de miotoxicidad (Joy y cols., 2009). El riesgo aumenta a dosis mayores, cuando se administran con fármacos concomitantes que interaccionan con las estatinas aumentando sus niveles plasmáticos (Buettner y cols., 2008), además el polimorfismo c.521T>C (rs4149056, p.V174A, *SLCO1B1**5) en el transportador *SLCO1B1* asociado a pérdida de actividad (captación de estatinas) a nivel de la membrana sinusoidal de los hepatocitos aumenta el riesgo de miotoxicidad y se supone que es por la reducción de la captación hepática de simvastatina, reducción de su eliminación biliar y el consecuente aumento de sus niveles plasmáticos los que aumentarían el riesgo de presentar miotoxicidad (Link y cols., 2008; Voora y cols., 2009). Por último, sólo un estudio ha investigado la relación de los niveles plasmáticos de atorvastatina y el riesgo de miotoxicidad. Hermann y cols. (2006) observaron que los pacientes que habían experimentado miotoxicidad presentaban unos niveles plasmáticos de lactona de atorvastatina y de para-OH-atorvastatina (la elevada exposición a estos se asocia con un aumento del riesgo de sufrir miotoxicidad de 2.4 y 3.1 veces, respectivamente) más altos que los pacientes libres de este acontecimiento adverso.

1.6.- Ensayos clínicos con estatinas: eficacia y toxicidad

1.6.1.- Eficacia de las estatinas en la reducción del riesgo de cardiopatía isquémica, riesgo cardiovascular global y mortalidad

Los estudios observacionales en diferentes poblaciones han mostrado la existencia de una relación positiva entre la aparición de enfermedad cardiovascular, especialmente enfermedad coronaria, y las concentraciones sanguíneas de colesterol.

El desarrollo de las estatinas ha constituido el impulso más relevante al tratamiento de la hipercolesterolemia y el riesgo cardiovascular asociado gracias a la realización de grandes estudios de morbilidad y mortalidad, tanto de prevención primaria como secundaria. Estos ensayos han demostrado que el uso de las estatinas y la consiguiente disminución del colesterol total y del LDL reducen significativamente la incidencia de eventos relacionados con la enfermedad coronaria y otros eventos cardiovasculares en un amplio rango de poblaciones. Un meta-análisis reciente analiza los beneficios de las estatinas sobre la morbilidad y mortalidad en un amplio espectro de pacientes (*Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators*, Baigent y cols., 2005). Incluyó 90056 pacientes incluidos en 14 ensayos clínicos con estatinas, y analizaron los efectos en diferentes variables de beneficio por cada mmol/l de reducción en el colesterol LDL. Los resultados de este meta-análisis confirman los resultados ya conocidos sobre la eficacia de las estatinas y facilitan la cuantificación de este beneficio. De los 90.056 pacientes, el 47% tenían antecedentes de enfermedad coronaria, el 24% eran mujeres, el 21% diabetes y el 55% hipertensión arterial. Las cifras medias de colesterol LDL pretratamiento fueron 3.79 mmol/l (rango: 3,03-4,96 mmol/l) y la duración media del seguimiento fue de 4.7 años (rango: 2-6 años).

Los resultados muestran que por cada mmol/l de reducción en la cifra de LDL se produce una reducción significativa del 12% en la mortalidad total debida fundamentalmente a una disminución del 19% en la mortalidad coronaria, sin una reducción no significativa de la mortalidad vascular no coronaria o de la mortalidad no vascular. Igualmente se observó una reducción de la frecuencia de infarto de miocardio (23%), de las intervenciones de revascularización coronaria (24%), la frecuencia de ACVA (17%) y su combinación en eventos vasculares mayores (21%).

Si desglosamos los beneficios de las estatinas entre pacientes con antecedentes previos de evento cardiovascular (prevención secundaria) y sin ellos (prevención primaria) y cuantificamos el beneficio como número de eventos evitados por cada 1000 pacientes tratados y por cada mmol/L de reducción de LDL, podemos ver que el beneficio es mucho mayor en la prevención secundaria. Así en pacientes con antecedentes de enfermedad cardiovascular, la reducción de 1 mmol/L con tratamiento con estatinas durante 5 años evita 30 (IC95%: 24–37) eventos coronarios mayores, 27 (IC95%: 20–34) revascularizaciones coronarias, 8 (IC95%: 4–12) ACVA y 48 (IC95%: 39–57) eventos vasculares mayores. Por el contrario en pacientes sin antecedentes de eventos por enfermedad cardiovascular previa se evitan 18 (IC95%: 14–23) eventos coronarios mayores, 12 (IC95%: 9–16) revascularizaciones coronarias, 5 (IC95%: 1–8) ACVA y 25 (IC95%: 19–31) eventos vasculares mayores.

En dicho meta-análisis también se puede definir la existencia de una clara relación entre la reducción del colesterol LDL y la reducción en la proporción de eventos vasculares mayores observados (véase **Figura 1.18**). Sin embargo los datos actuales indican que no puede definirse claramente un umbral por debajo del cual la reducción del nivel de colesterol no se asocie a una disminución del riesgo, aunque algunos autores han definido que niveles inferiores a 125 mg/dl (\approx 3.24 mmol/l) no conllevan disminuciones ulteriores en el riesgo (Sacks y cols., 1998).

1.6.2.- Riesgos asociados al uso de estatinas

Los efectos adversos más relevantes asociados a la utilización de estatinas con la miopatía y la neuropatía. La miopatía fue la causa de la retirada del mercado de cerivastatina, con la que se mostró un incremento del riesgo de rabdomiolisis de aproximadamente 10 veces en comparación con otras estatinas cuando se administró en monoterapia y un aumento dramático cuando se asoció con gemfibrozilo. El riesgo estimado de rabdomiolisis en pacientes en tratamiento con otras estatinas se estima en 3/100.000 personas/año. La miopatía tiene un riesgo atribuible de aproximadamente 11/100.000 personas/año. El riesgo de miopatía se incrementa con fármacos que inhiben el CYP3A4 (en el caso de pravastatina no se presenta esta interacción) y con la coadministración de gemfibrozilo (Law y cols., 2006).

Sin embargo debe tenerse en cuenta que la mayor parte de los ensayos clínicos y del uso habitual en los que se basan estos datos no han incluido dosis altas de

estatinas, por lo que no puede excluirse que con las dosis más altas el riesgo sea significativamente superior.

Varios estudios observacionales han sugerido que tratamiento con estatinas se asocia a un riesgo, aunque pequeño estadísticamente significativo, de desarrollar neuropatía periférica, posiblemente debido al empeoramiento del funcionamiento mitocondrial secundario al descenso de la síntesis de ubiquinona (Backes y cols., 2003; Chong y cols., 2004).

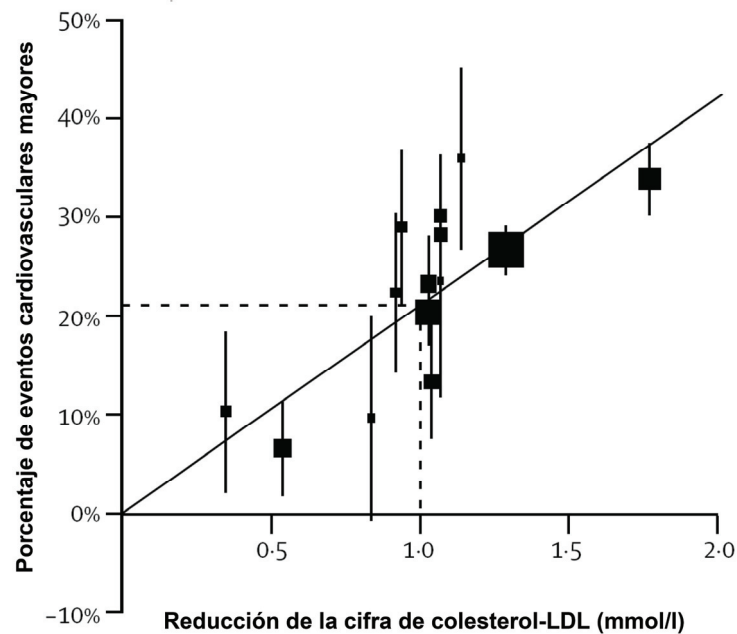


Figura 1.18. Relación entre la reducción de la cifra de colesterol-LDL al año del inicio del tratamiento con estatinas y el porcentaje de reducción en los eventos cardiovasculares mayores (evento coronario mayor, ACVA y revascularización coronaria) (1 mmol/l \approx 38.6 mg/dl de LDL) (Fuente: Baigent y cols., 2005).

Las informaciones sobre la existencia de un aumento del riesgo de presentar alteraciones del comportamiento asociado al uso de estatinas provenientes de estudios observacionales son contradictorios (Reidenberg, 2008). Sin embargo, parece existir un mayor riesgo de presentar insomnio entre los tratados con estatinas (Tuccori y cols., 2008).

Otro acontecimiento adverso que se ha asociado al uso de estatinas es el aumento asintomático de las transaminasas sin un incremento en el riesgo de desarrollar hepatopatía (Armitage, 2007), aunque su incidencia aumenta con dosis altas (Dale y cols., 2007b).

1.7.- Diferencias entre sexos

Hasta no hace mucho se consideraba que las diferencias en la farmacocinética y la respuesta a los fármacos entre hombres y mujeres podrían ser explicadas por las diferencias anatómicas (**Tabla 1.8**) existentes entre ambos sexos (Uhl, 2008). No obstante, en la actualidad la farmacología clínica reconoce que hombres y mujeres son diferentes, no sólo en apariencia externa, sino también, en el modo de interactuar con los fármacos (Gray, 2007). Pero el camino que ha llevado hasta esta afirmación ha sido largo y tedioso. A pesar de que en su guía de "Consideraciones generales sobre la evaluación clínica de fármacos" del año 1977 la FDA recomendaba evitar la participación de mujeres en edad fértil en los ensayos clínicos de las fases iniciales de desarrollo de nuevos fármacos 16 años más tarde tuvo que retractarse. En su guía del año 1993 sobre el estudio y la evaluación de las diferencias entre sexos en la evaluación clínica de fármacos la FDA reconocía la existencia de tales diferencias y recomendaba el análisis estratificado por sexos de la respuesta terapéutica a los nuevos fármacos (FDA, 1993). A los esfuerzos de la FDA por concienciar sobre la existencia de diferencias intrínsecas entre hombres y mujeres se sumó el Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias de EE.UU. con su informe del año 2001 que concluye que las diferencias entre sexos han de ser consideradas e investigadas en todos los ámbitos de la ciencias de la salud (Wizemann, 2001).

A pesar de que la mujer se ha ido incorporando progresivamente en las fases tempranas del desarrollo de fármacos todavía su presencia no es equitativa. En las 300 solicitudes de nuevos principios activos enviadas a la FDA entre los años 1994 y 2000 sólo en el 54% de ellas las diferencias entre sexos fueron analizadas (Nicolas y cols., 2009). En cambio, en año 2006 en los ensayos clínicos de fase III financiados por los Institutos Nacionales de Salud de EE.UU. el 63% de los participantes fueron mujeres (Soldin y cols., 2009).

Con frecuencia las diferencias entre sexos se manifiestan como diferencias en la exposición a los fármacos. En el 28% de los fármacos investigados en estudios de bioequivalencia presentados ante la FDA entre los años 1977 y 1995 se detectaron diferencias entre sexos en la biodisposición (Chen y cols., 2000). Al ajustar por las diferencias en el peso corporal estas diferencias se redujeron al 15% sugiriendo que cerca de la mitad de las diferencias entre ambos sexos son explicables por diferencias en la dosis por kg de peso corporal administrada y la otra mitad son intrínsecas a la condición de ser hombre o mujer. Hay que distinguir tres tipos de

factores que contribuyen a la existencia de diferencias farmacocinéticas entre sexos. Por un lado están los factores anatómicos (**Tabla 1.8**) y por otro están los factores fisiológicos y moleculares que explicarían las diferencias intrínsecas (Soldin y cols., 2009). Las mujeres presentan un peso corporal total menor con mayor porcentaje de grasa corporal. Entre las diferencias fisiológicas, aparte de las reproductivas, destacan la menor secreción gástrica, mayor frecuencia respiratoria, unos niveles de α_1 -glicoproteína ácida más bajos y un filtrado glomerular menor en las mujeres.

Tabla 1.8. Diferencias anatómicas entre hombres y mujeres.

Parámetro (unidades)	Valores medios de referencia*		
	Varón adulto	Mujer adulta	Mujer embarazada
Peso corporal total (kg)	78	68	72.5
Talla (cm)	176	162	162
Superficie corporal (m ²)	1.80	1.60	1.65
IMC (kg/m ²)**	25.2	25.9	27.6
Agua corporal total (L)	42	29	33
Agua extracelular (L)	18.2	11.6	15
Agua intracelular (L)	23.8	17.4	18

* Valores medios de la población estadounidense durante el periodo 1960-2002. Con el aumento del porcentaje de grasa corporal los valores de los parámetros se desplazarían a la derecha.

** Índice de masa corporal.

Fuente: Soldin y cols., 2009.

Los factores moleculares que contribuyen a explicar las diferencias intrínsecas entre sexos serían las diferencias en la expresión y/o actividad de enzimas metabolizadoras y transportadores de fármacos.

La enzima CYP3A4 es la isoforma de citocromos P-450 más abundante a nivel hepático e intestinal y la que metaboliza el mayor número de fármacos. Su expresión a nivel de ARN mensajero y a nivel proteico es un 90% y un 200%, respectivamente, más alto en las mujeres que en los hombres (Nicolas y cols., 2009). Estas diferencias se traducen en una diferencia en la actividad enzimática, cerca del 50% mayor en las mujeres (Greenblatt y cols., 2008). Aunque en un principio se sugirió que estas diferencias se debían a las diferencias en los niveles de hormonas sexuales entre ambos sexos, actualmente la idea de la implicación de la hormona de crecimiento en la regulación de la expresión sexo dependiente de la CYP3A4 cobra mayor fuerza. El patrón de secreción de la hormona de crecimiento sería el responsable de establecer un patrón de expresión "femenino" o "masculino" de una serie de enzimas hepáticas entre las que estaría la CYP3A4 (Waxman y cols., 2009). El patrón de secreción pulsátil, típico de los hombres, se asociaría a un

descenso y el patrón de secreción continua, característico de las mujeres, a un aumento de la actividad enzimática de la CYP3A4 (Jaffe y cols., 2002).

Otras isoformas de citocromos P-450 que muestran un dimorfismo sexual en su actividad son la CYP1A2 y la CYP2E1. La actividad enzimática de ambas es mayor en los hombres (Nicolas y cols., 2009). La actividad enzimática de las UDP-glucuroniltransferasas (UGTs) también es mayor en los hombres (Schwartz, 2003).

Recientemente se ha descrito la existencia de un dimorfismo sexual en la expresión y la actividad en una de las paraoxonasas (*PON1*), siendo mayor en las mujeres que en los hombres, tanto en humanos como en animales de experimentación (Winnier y cols., 2007).

En animales de experimentación se han descrito dimorfismos sexuales en la expresión y la actividad de varios transportadores de fármacos. Sin embargo, en humanos estas diferencias han sido investigadas sólo para el transportador ABCB1 cuya expresión a nivel hepático es dos veces mayor en los hombres respecto a las mujeres (Schuetz y cols., 1995). Se desconoce si este dimorfismo sexual existe también a nivel intestinal.

1.7.1.- Diferencias entre sexos en la farmacocinética de las estatinas

La información presente en la literatura sobre las diferencias entre sexos en los parámetros farmacocinéticos de las estatinas es escasa y procede fundamentalmente de un reducido número de estudios de limitado tamaño muestral y escaso poder estadístico.

- **Lovastatina y simvastatina**

Las diferencias entre sexos y entre jóvenes y personas mayores en los parámetros farmacocinéticos de lovastatina y simvastatina fueron evaluados en un estudio de diseño cruzado en el que participaron 16 pacientes (7 hombres y 9 mujeres) mayores de 70 años y 18 jóvenes (9 hombres y 9 mujeres) de edades comprendidas entre los 19 y los 30 años todos ellos con hipercolesterolemia primaria (Cheng y cols., 1992). Para evaluar los parámetros cinéticos en estado de equilibrio estacionario ambos grupos recibieron durante los 17 días de cada periodo del estudio una dosis diaria por vía oral de 80 mg de lovastatina y una de 40 mg de simvastatina separados por un periodo de lavado de 4 semanas siguiendo una asignación aleatoria de las secuencias. Las concentraciones plasmáticas de ambas estatinas fueron cuantificadas el último día de cada periodo mediante un método de determinación enzimático que detecta la concentración total en plasma de

moléculas con capacidad inhibidora de la HMG-Co reductasa, es decir, los hidroxiácidos de lovastatina y simvastatina, y sus respectivos metabolitos activos.

El AUC_{0-24h} y la C_{max} medios de lovastatina (actividad inhibidora total en plasma) fueron entre un 30 y un 60% mayores en los pacientes ancianos respecto a los menores de 30 años. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas para los valores de C_{max} sólo en las mujeres y para el AUC sólo en los hombres. En cambio, las diferencias de entre un 20% y un 50% a favor de las mujeres en los mismos parámetros cinéticos, no alcanzaron la significación estadística a excepción de los valores de C_{max} en los pacientes mayores (Cheng y cols., 1992). Los valores medios del AUC_{0-24h} y la C_{max} de simvastatina (actividad inhibidora total en plasma) fueron mayores entre un 40% y un 60% en los pacientes ancianos respecto a los jóvenes, aunque estas diferencias por edad en ambos parámetros alcanzaron significación estadística sólo en los hombres. Las diferencias entre sexos fueron de un 20 a un 50% a favor de las mujeres, aunque fueron estadísticamente significativos solo para los valores de C_{max} en el grupo de menores de 30 años (Cheng y cols., 1992).

Teniendo en cuenta las limitaciones del estudio, en cuanto al método analítico, su tamaño muestral y la ausencia de ajuste por el peso corporal (entre los 50 y los 100 kg, tanto en los jóvenes como en los ancianos) de los parámetros cinéticos evaluados, es difícil poder establecer la existencia o no de una diferencia real entre sexos o por edad ni estimar su magnitud, aunque parece existir cierta tendencia de unos valores de AUC_{0-24h} y C_{max} mayores en las mujeres y las personas de mayor edad, sin poder descartar el papel en estas diferencias del peso corporal como factor de confusión. No obstante, los autores del estudio, empleados de la compañía farmacéutica propietaria de ambas estatinas, concluyen que las diferencias entre sexos o por edad, si es que existen, son de escasa relevancia clínica haciendo innecesarios los ajustes de dosis por sexo o edad (Cheng y cols., 1992).

- **Pravastatina**

La influencia de la edad y del sexo en los parámetros farmacocinéticos de la pravastatina ha sido investigada en varios estudios. En el primero de ellos hombres y mujeres jóvenes y mayores recibieron una dosis única de 20 mg de pravastatina por vía oral (Pan y cols., 1993). Las concentraciones plasmáticas de pravastatina y su metabolito 3' α -iso fueron determinadas hasta las 4 horas posteriores de la administración mediante HPLC. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en el AUC_{0-4h} y la C_{max} de pravastatina y su metabolito entre los

hombres jóvenes y mayores, aunque los valores de estos parámetros cinéticos fueron ligeramente superiores en estos últimos. En cambio, en el grupo de las mujeres, el AUC_{0-4h} de pravastatina fue 55% mayor en las ancianas que en las jóvenes y esta diferencia alcanzó significación estadística. Tampoco en este grupo se detectaron diferencias en los parámetros cinéticos del metabolito 3' α -iso. La comparación entre hombres y mujeres de los mismos parámetros cinéticos de pravastatina y su metabolito no detectó diferencias estadísticamente significativas. En un estudio posterior en el que participaron en total 20 individuos a los que se administraron dosis diarias de 20 mg de pravastatina por vía oral hasta alcanzar el equilibrio estacionario, tampoco se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos sexos o por edad en el $AUC_{0-4.5h}$ ni en la C_{max} de pravastatina (Sigurbjornsson y cols., 1998). En ninguno de estos estudios se realizó un ajuste de los parámetros cinéticos por el peso corporal.

En un estudio de bioequivalencia en el que participaron 24 voluntarios sanos menores de 40 años (11 mujeres y 13 hombres) de Barcelona a los que se administró por vía oral una dosis única de 40 mg de pravastatina se analizaron, también, las diferencias en los parámetros cinéticos entre hombres y mujeres (Almeida y cols., 2006). Las concentraciones de pravastatina en plasma fueron determinadas por HPLC-MS/MS. La C_{max} y el AUC_{0-14h} de pravastatina fueron un 45% y un 31% más altos en las mujeres que en los hombre, respectivamente. No obstante, la significación estadística de estas diferencias desapareció una vez que los parámetros cinéticos fueron ajustados por la dosis administrada por *kg* de peso corporal indicando que las diferencias entre sexos son debidas a la mayor cantidad de dosis por *kg* recibida por las mujeres dado su menor peso corporal.

Por último, hay dos estudios más que han evaluado las diferencias entre hombres y mujeres en los parámetros cinéticos de pravastatina como un objetivo secundario en el contexto de un estudio cuyo objetivo primario era farmacogenético. Ambos estudios fueron llevados a cabo en voluntario sanos finlandeses que recibieron una dosis única de 40mg. En el primero de ellos las diferencias entre ambos sexos no fueron estadísticamente significativas (Niemi y cols., 2004) debido probablemente a la heterogeneidad genética de la población muestral (24 mujeres y 17 hombres). En cambio en el segundo, los mismos autores compararon esta vez los parámetros cinéticos entre 8 hombres y 8 mujeres homocigotos para el alelo silvestre del polimorfismo investigado (Niemi y cols., 2006a) y encontraron que los valores de C_{max} y $AUC_{0-\infty}$ de pravastatina eran un 147% (IC95%: 12-281%) y un 142% (IC95%: 7-242%) más altos en las mujeres que en los hombres, respectivamente.

Dado que el peso corporal de las mujeres era inferior al de los hombres ajustaron los valores de $AUC_{0-\infty}$ por el peso corporal total y el peso magro estandarizándolos para una persona de 70 kg de peso y constataron que aunque de menor magnitud (un 78% y 65% más altos en las mujeres, respectivamente) las diferencias seguían siendo estadísticamente significativas.

- **Fluvastatina**

La influencia de la edad y del sexo en los parámetros cinéticos de fluvastatina fueron evaluados en dos grupos de pacientes con hipercolesterolemia primaria, uno compuesto por 15 pacientes mayores de 65 años (9 hombres y 6 mujeres) y el otro por 22 menores de 50 años (14 hombres y 8 mujeres) que recibieron dosis diarias de 20 mg por vía oral hasta alcanzar el estado de equilibrio estacionario (Scripture y cols., 2001). No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los jóvenes y los mayores en el AUC o la C_{max} de fluvastatina. En cambio, en el grupo de los jóvenes el AUC de las mujeres fue un 30-35% más elevado que el de los hombres. Sin embargo, al ajustar lo por el peso corporal estas diferencias se redujeron a menos del 2% y perdieron su significación estadística. En cambio, en el mismo estudio farmacogenético con voluntarios sanos finlandeses en el que se analizaban como objetivo secundario las diferencias entre sexos en los parámetros cinéticos de pravastatina (8 hombres y 8 mujeres homocigotos para el alelo silvestre del polimorfismo investigado) no se detectaron diferencias entre ambos sexos en las variables cinéticas de fluvastatina (Niemi y cols., 2006a). Tanto los valores de C_{max} , como los de $AUC_{0-\infty}$, sin ajustar o ajustado por el peso corporal o por el peso magro estandarizados para una persona de 70 kg, fueron similares en hombres y mujeres.

- **Cerivastatina**

Las diferencias entre sexos y por edad en los parámetros cinéticos de cerivastatina fueron evaluadas en un estudio paralelo en el que dos grupos de voluntarios sanos, uno compuesto por mayores de 65 años (12 hombres y 12 mujeres) y el otro por menores de 65 años (12 hombres y 12 mujeres) que recibieron dosis diarias de 0.2 mg por vía oral durante 7 días (Isaacsohn y cols., 2001). El AUC ajustado por el peso corporal en los mayores de 65 años fue 21% mayor en los hombres, en cambio, el AUC de las mujeres fue un 26% mayor que el de los hombres en el grupo de menores de 65 años. La C_{max} de cerivastatina en las mujeres mayores de 65 años fue un 30% mayor que la de los hombres del mismo grupo de edad, y que la de los hombres y mujeres menores de 65 años.

- **Atorvastatina**

El efecto de la edad y del sexo sobre los parámetros cinéticos de atorvastatina fue evaluado en un estudio con 36 voluntarios sanos la mitad mayores de 66 años (8

hombres y 8 mujeres) y la otra mitad menores de 35 años (8 hombres y 8 mujeres) a los que se administró por vía oral una dosis única de 20 mg (Gibson y cols., 1996). Las concentraciones plasmáticas fueron cuantificadas mediante un método de determinación enzimático que detecta la concentración total en plasma de moléculas con capacidad inhibidora de la HMG-Co reductasa, es decir, la atorvastatina y sus metabolitos activos (*orto*- y *para*-hidroxi). La C_{\max} de la actividad inhibidora total de atorvastatina en plasma fue un 42% mayor en los mayores de 66 años que en los menores de 35 años y un 18% mayor en las mujeres respecto a los hombres. Las diferencias entre sexos y por edad en los valores de AUC y la vida media de eliminación terminal ($t_{1/2}$), también, fueron significativas. El AUC de la actividad inhibidora total de atorvastatina en plasma fue 27% mayor en las personas mayores de 66 años respecto a los jóvenes y un 11% mayor en los hombres. La $t_{1/2}$ de la actividad inhibidora total de atorvastatina en plasma fue 36% más larga en los mayores de 66 años y un 20% más corta en las mujeres que en los hombres. El T_{\max} , también, fue afectado por la edad y el sexo, siendo más corto en los mayores de 66 años (un 5%) y en las mujeres (un 40%) respecto a los menores de 35 años y los hombres, respectivamente.

- **Rosuvastatina y Pitavastatina**

En el primer estudio, que ha investigado el efecto de la edad y del sexo sobre los parámetros cinéticos de rosuvastatina participaron 36 voluntarios sanos de los cuales la mitad mayores de 65 años (8 hombres y 8 mujeres) y la otra mitad menores de 35 años (8 hombres y 8 mujeres) a los que se les administró por vía oral una dosis única de 20 mg (Martin y cols., 2002). A pesar de que la C_{\max} y el AUC fueran ligeramente más altos en los menores de 35 años (12% y 6%, respectivamente) y en las mujeres (18% y 9%, respectivamente) estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. En un estudio posterior cuyo objetivo principal era investigar la proporcionalidad de la disposición de rosuvastatina en el rango de dosis de 5 a 20 mg se analizaron, también, las diferencias entre sexos (Li y cols., 2007). En el estudio participaron 12 voluntarios sanos (6 hombres y 6 mujeres) chinos de edades comprendidas entre 20 y 24 años a los que se les administraron dosis únicas de rosuvastatina de 5, 10 y 20 mg en un diseño cruzado con 1 semana de periodo de lavado. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre sexos en ninguno de los parámetros farmacocinéticos analizados (C_{\max} , T_{\max} , AUC_t y $t_{1/2}$) en el rango de dosis investigado. No obstante, al igual que en el anterior estudio, las mujeres presentaron valores de C_{\max} y AUC_t superiores que los hombres en las tres dosis investigadas. A pesar de que la magnitud de las diferencias en la C_{\max} y el AUC_t a favor de las mujeres fueron mayores (entre un 50-70% y un 85-120% mayores, respectivamente) no alcanzaron la significación

estadística. En ambos estudios los parámetros cinéticos no fueron ajustados por el peso corporal ni la dosis administrada. Hasta la fecha no existen datos publicados en la literatura sobre la existencia o no de diferencias entre hombres y mujeres en los parámetros cinéticos de pitavastatina.

1.7.2.- Diferencias entre sexos en la farmacodinamia de las estatinas

Es difícil saber qué parte de las diferencias entre sexos en la respuesta al tratamiento con estatinas son explicables por diferencias cinéticas en la exposición y qué parte son debidas a diferencias en la dinámica (Anderson, 2008).

1.7.2.1.- Diferencias en la eficacia terapéutica

Hasta la fecha no disponemos de ningún ensayo clínico controlado con placebo en el que además se haya realizado una aleatorización estratificada por sexo de la asignación del tratamiento con estatinas (Ward y cols., 2007). Por este motivo, al carecer de una verdadera comparación aleatorizada toda la información disponible sobre las posibles diferencias en la repuesta hipolipemiente y la reducción de eventos cardiovasculares entre hombres y mujeres procede de análisis secundarios exploratorios.

En cuanto a la eficacia hipolipemiente existen estudios que sugieren una mayor eficacia, evaluada como el porcentaje de pacientes que alcanzan el objetivo de reducción de los niveles de LDL, en las mujeres (Goff y cols., 2006) y otros que sostienen todo lo contrario (Cooke y cols., 2006).

Los datos disponibles sobre las posibles diferencias en la reducción del riesgo cardiovascular provienen de varios metanálisis (Cheung y cols., 2004; Dale y cols., 2007a) y de una revisión sistematizada (Walsh y cols., 2004) de ensayos clínicos controlados y aleatorizados. En el primer metanálisis en el que se incluyeron 10 ensayos clínicos tanto de prevención primaria como de secundaria con estatinas en un total de 23447 pacientes (19% mujeres) no se detectaron diferencias entre sexos en la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares (Cheung y cols., 2004). El riesgo relativo global por sexos fue de 0.74 (IC95%: 0.69-0.79) y de 0.77 (IC95%: 0.64-0.94) en hombres y mujeres, respectivamente. El segundo metanálisis incluyó a un mayor número de ensayos clínicos (14 en total) y un total de 71978 pacientes, 25% de los cuales fueron mujeres pero tampoco detectó diferencias significativas en la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares entre ambos sexos (Dale y cols., 2007a). El riesgo relativo global por sexos fue de 0.76 (IC95%: 0.70-0.81) y de 0.79 (IC95%: 0.69-0.90) en hombres y mujeres,

respectivamente. Sin embargo, en los hombres a la reducción del riesgo contribuyeron fundamentalmente la reducción de infartos de miocardio, la mortalidad y el ictus, en las mujeres, en cambio, se debió a la reducción de revascularizaciones y/o anginas inestables ya que la reducción de la mortalidad y del ictus no fueron significativas, probablemente por falta de poder estadístico.

Si analizamos por separado las diferencias entre sexos en la eficacia de las estatinas en prevención primaria y secundaria vemos que la reducción del riesgo de mortalidad por cardiopatía isquémica o infarto de miocardio no fatal es significativa en los hombres tanto en prevención primaria (RR = 0.59, IC95%: 0.45-0.77) como secundaria (RR = 0.77, IC95%: 0.70-0.85), en cambio en las mujeres lo es en la secundaria (RR = 0.75, IC95%: 0.61-0.92) pero no en la primaria (RR = 1.10, IC95%: 0.57-2.10) (Ward y cols., 2007). Una revisión sistematizada de los 6 ensayos clínicos de prevención primaria con estatinas tampoco pudo demostrar en las mujeres una reducción significativa del riesgo de mortalidad por cualquier causa (RR = 0.95, IC95%: 0.62-1.46) o de eventos relacionados con la cardiopatía isquémica (RR = 0.87, IC95%: 0.69-1.09) (Walsh y cols., 2004). En cambio, un estudio observacional ha descrito una menor reducción del riesgo de eventos cardiovasculares al año y a los 3 años de seguimiento en las mujeres tratadas con estatinas (Karp y cols., 2007).

Con los datos disponibles no podemos concluir que hay diferencias entre ambos sexos en la respuesta a las estatinas (Ward y cols., 2007; Pilote y cols., 2007). De modo que son necesarios más ensayos clínicos que incluyan un mayor número de mujeres y que la asignación aleatoria del tratamiento se realice de forma estratificada en hombres y mujeres para poder obtener una respuesta definitiva.

1.7.2.2.- Diferencias en la toxicidad

El riesgo de presentar una reacción adversa asociado a la administración de cualquier fármaco es entre un 1.5 y 1.7 veces mayor en las mujeres (Anderson, 2005). A demás, la gravedad de las reacciones adversas es mayor en las mujeres (Soldin y cols., 2009). Un factor que podría explicar, al menos en parte, estas diferencias es el hecho de que las mujeres al pesar menos que los hombres reciben una mayor cantidad de fármaco por unidad de peso corporal (Anderson, 2005).

En el caso de la miopatía inducida por estatinas el sexo femenino constituye también uno de los factores de riesgo asociados a esta reacción adversa (Joy y

cols., 2009). Sin embargo, es difícil saber cuál es la contribución de las diferencias anatómicas y de las fisiológicas o moleculares entre ambos sexos.

1.8.- Estudios farmacogenéticos con estatinas

La farmacogenética y la farmacogenómica consisten en el estudio de la influencia de los polimorfismos genéticos (variaciones en el ADN genómico), localizados en unos pocos genes o a lo largo de todo el genoma, respectivamente, sobre la disposición, la respuesta o la toxicidad de un tratamiento farmacológico (Roden y cols., 2002; Goldstein y cols., 2003).

Los ensayos clínicos realizados en las últimas dos décadas han demostrado los efectos beneficiosos del tratamiento con estatinas en la prevención primaria, pero sobre todo en la prevención secundaria de la enfermedad cardiovascular. Como consecuencia, las estatinas se han convertido en la clase terapéutica más prescrita en los últimos años. No obstante, se ha constatado la existencia de una considerable variabilidad interindividual en su respuesta terapéutica en términos, tanto de eficacia hipolipemiente (reducción de LDL), como en la prevención de eventos cardiovasculares (Thompson y cols., 2002; LaRosa, 2000). A pesar de que la dosis de estatinas se ajusta de forma individualizada mediante la monitorización periódica de su respuesta hipolipemiente, cerca de un tercio de los pacientes no logra alcanzar la reducción óptima de LDL marcada por las guías terapéuticas (AHA, 2009).

Entre los factores identificados como potenciales causantes de esta variabilidad en la respuesta terapéutica se encuentran los extrínsecos o ambientales y los intrínsecos o genéticos (Thompson y cols., 2002). Los principales factores no genéticos serían el incumplimiento terapéutico (por consumo errático o discontinuación; en 6 meses cerca del 30% discontinúa el tratamiento a pesar de una buena tolerancia), la dieta rica en grasas, el momento de administración (la eficacia es máxima si se administran antes de acostarse ya que la tasa de biosíntesis endógena de colesterol es mayor de madrugada, a excepción de atorvastatina y rosuvastatina que pueden administrarse a cualquier hora del día debido a su larga vida media), la edad, el sexo o las interacciones farmacológicas que alteran la disposición de las estatinas. En los factores genéticos están depositadas muchas esperanzas de que puedan explicar una parte no despreciable de la variabilidad residual que los factores ambientales son incapaces de explicar.

Se estima que los factores genéticos podrían explicar entre un 20% y un 95% de esta variabilidad residual en la disposición de los fármacos (Kalow y cols., 1998; Weinshilboum, 2003; Evans y cols., 2003). Pero la variabilidad en la respuesta terapéutica no guarda siempre una relación lineal directa con las variaciones en la

disposición de los fármacos, por lo que, la heterogeneidad genética en las dianas terapéuticas, al igual que los polimorfismos en las redes fisiopatológicas de la enfermedad a tratar explicarían la mayor parte de la variabilidad en la respuesta (Goldstein, 2005; Goldstein y cols., 2007).

De esta forma se pueden distinguir tres grupos de genes cuyo polimorfismo genético contribuye a la variabilidad en la respuesta terapéutica (Goldstein y cols., 2003). El primero de ellos estaría formado por los genes que codifican las enzimas metabolizadores o proteínas transportadoras de fármacos y que influenciarían la variabilidad farmacocinética. El segundo, sería el grupo de genes involucrados en la farmacodinamia e incluiría a las dianas terapéuticas como la HMG-CoA reductasa y el resto de componentes implicados en la biosíntesis, transporte, metabolismo y eliminación del colesterol, en el caso de las estatinas. Por último, el tercer grupo estaría constituido por los genes implicados en la red fisiopatológica subyacente a patogénesis de la enfermedad a tratar o sus diversos endofenotipos (la enfermedad cardiovascular, en el caso de las estatinas).

A modo esquemático hemos representado en cuatro figuras los estudios farmacogenéticos con estatinas en voluntarios sanos, pacientes con hipercolesterolemia familiar o con hipercolesterolemia primaria agrupándolos por estatina y por cada uno de los cinco fenotipos. En la primera representamos a los estudios farmacogenéticos realizados en los pacientes con hipercolesterolemia familiar sin agrupar a los genes investigados dado su reducido número (**Figura 1.19**), en la segunda a los estudios que han investigados a genes involucrados en los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación (ADME) de las estatinas (**Figura 1.20**), en la tercera a los que se han centrado en los genes involucrados en su farmacodinamia incluyendo a su diana terapéutica, la HMG-CoA reductasa, y al resto de componentes implicados en la biosíntesis, transporte, metabolismo y eliminación del colesterol (**Figura 1.21**). Por último, la cuarta figura englobaría a los genes implicados en la red fisiopatológica de la aterosclerosis y la enfermedad cardiovascular (**Figura 1.22**). En cada una de las figuras se resume el impacto del polimorfismo genético de los genes estudiados sobre cinco fenotipos; el primero es el fenotipo farmacocinético (PK), los dos siguientes son los fenotipos farmacodinámicos intermedios, la respuesta hipolipemiente (PD-L) y la respuesta pleiotrópica (PD-P), y los dos últimos son los fenotipos clínicos que representan a la toxicidad muscular (Tox), y a la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares (Clin-EvCV).

Estatinas ^a	Fenotipos ^b	Genes ^c						
		LDLR	APOE	CETP	SREBF2	PON1	SLCO1B1	ABCB1
LOV	PK							
	PD-L							
	PD-P							
	Tox							
	Clin-EvCV							
SIM	PK							
	PD-L							
	PD-P							
	Tox							
	Clin-EvCV							
PRA	PK							
	PD-L							
	PD-P							
	Tox							
	Clin-EvCV							
FLU	PK							
	PD-L							
	PD-P							
	Tox							
	Clin-EvCV							
ATO	PK							
	PD-L							
	PD-P							
	Tox							
	Clin-EvCV							
Varias	PK							
	PD-L							
	PD-P							
	Tox							
	Clin-EvCV							

■ Presencia de asociación y su dirección (flechas)
■ Resultados contradictorios
■ No asociación
■ No estudiado

Figura 1.19. Estudios farmacogenéticos en pacientes con hipercolesterolemia familiar.

^a *Estatinas*: LOV = lovastatina; SIM = simvastatina; PRA = pravastatina; FLU = fluvastatina; ATO = atorvastatina; Varias = representa a los estudios en los que se administran diferentes estatinas pero el análisis es conjunto; Los polimorfismos de estos genes no han sido estudiados en el resto de estatinas.

^b *Fenotipos*: PK = fenotipo farmacocinético (exposición plasmática); PD-L = respuesta hipolipemiente; PD-L = respuesta pleiotrópica; Tox = toxicidad muscular; Clin-EvCV = reducción del riesgo de eventos cardiovasculares.

^c *Genes*: se representa el símbolo oficial del nombre de cada uno de los genes según el HGNC [HUGO (The Human Genome Organization) Gene Nomenclature Committee] (<http://www.genenames.org>) cuyos polimorfismos han sido investigados en relación con cualquiera de los 5 fenotipos.

1.8.1.- Lovastatina

En los pacientes con hipercolesterolemia familiar (HF) tratados con lovastatina se ha investigado el efecto sobre la respuesta hipolipemiente de los polimorfismos de dos genes del grupo de las dianas terapéuticas, el del receptor de LDL (*LDLR*) y el de la apolipoproteína E (*APOE*) (véase **Figura 1.19**).

- **LDLR**

Ninguno de los dos estudios farmacogenéticos publicados ha encontrado una asociación de los polimorfismos del gen *LDLR* con la respuesta hipolipemiente en los pacientes con HF tratados con lovastatina (Vuorio y cols., 1995; Leren y cols., 1995).

- **APOE**

Los cuatro estudios farmacogenéticos publicados han encontrado resultados contradictorios respecto a la asociación de los polimorfismos del gen *APOE* con la respuesta hipolipemiente en los pacientes con HF tratados con lovastatina (Ojala y cols., 1991; O'Malley y cols., 1990; Carmena y cols., 1993; Leren y cols., 1995).

En los pacientes con hipercolesterolemia primaria (HP) tratados con lovastatina se ha investigado el efecto sobre la respuesta hipolipemiente y los parámetros angiográficos y clínicos de los polimorfismos de cuatro genes, un gen, el *CYP3A5*, del grupo ADME (véase **Figura 1.20**) y tres genes, el de la apolipoproteína E (*APOE*), el de la lipasa hepática (*LIPC*) y el de la lipoproteinlipasa (*LPL*) del grupo de dianas terapéuticas (véase **Figura 1.21**).

- **CYP3A5**

Un estudio ha objetivado en los portadores del alelo *3 del gen *CYP3A5* una mejor respuesta hipolipemiente en forma de una mayor reducción de colesterol total y LDL en los pacientes con HP tratados con lovastatina (Kivisto y cols., 2004a).

- **APOE**

Los estudios publicados han objetivado resultados contradictorios respecto a la asociación de los polimorfismos del gen *APOE* con la respuesta hipolipemiente en los pacientes con HP tratados con lovastatina (Ojala y cols., 1991; Sanllehy y cols., 1998; Tavintharan y cols., 2007).

- **LIPC**

El único estudio que ha investigado los polimorfismos en el gen *LIPC* en los pacientes con HP tratados con lovastatina como profilaxis secundaria ha encontrado que se asocian a una mejor respuesta hipolipemiente (mayor reducción de LDL) y mejor respuesta angiográfica (Zambon y cols., 2001).

- **LPL**

Goodarzi y cols. (2007) han observado que ciertos haplotipos del gen *LPL* se asocian a una mejor respuesta hipolipemiente (mayor aumento de HDL y reducción de TG) y a una menor oclusión del by-pass aorto-coronario en los pacientes con HP tratados con lovastatina como profilaxis secundaria.

Estatinas ^a	Fenotipos ^b	Genes ^c														
		CYP3A4	CYP3A5	CYP2C8	CYP2C9	CYP2D6	PON1	ABCB1	ABCB11	ABCC2	ABCG2	SLCO1B1	SLC22A8	GNB3	UGT2B7	
LOV	PK															
	PD-L		↑													
	PD-P															
	Tox															
	Clin-EvCV															
SIM	PK		↑								↑	↑				
	PD-L							↑				↓				
	PD-P															
	Tox							↓				↑				
	Clin-EvCV															
PRA	PK															
	PD-L						↑					↓				
	PD-P															
	Tox															
	Clin-EvCV															
FLU	PK				↑						↑					
	PD-L					↑										
	PD-P						↑									
	Tox															
	Clin-EvCV															
ATO	PK										↑	↑			↓	
	PD-L	↓	↑													
	PD-P															
	Tox															
	Clin-EvCV															
PIT	PK											↑				
	PD-L															
	PD-P															
	Tox															
	Clin-EvCV															
ROS	PK										↑	↑				
	PD-L															
	PD-P															
	Tox															
	Clin-EvCV															
Varias	PK															
	PD-L					↑						↓				
	PD-P															
	Tox											↑				
	Clin-EvCV													↑		

Presencia de asociación y su dirección (flechas)

Resultados contradictorios

No asociación

No estudiado





 Presencia de asociación y su dirección (flechas)
 Resultados contradictorios
 No asociación
 No estudiado

Figura 1.20. Estudios farmacogenéticos de genes ADME en voluntarios sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria.

^a *Estatinas*: LOV = lovastatina; SIM = simvastatina; PRA = pravastatina; FLU = fluvastatina; ATO = atorvastatina; PIT = pitavastatina; ROS = rosuvastatina; Varias = representa a los estudios en los que se administran diferentes estatinas pero el análisis es conjunto; Los polimorfismos de estos genes no han sido estudiados en el resto de estatinas.

^b *Fenotipos*: PK = fenotipo farmacocinético (exposición plasmática); PD-L = respuesta hipolipemiante; PD-L = respuesta pleiotrópica; Tox = toxicidad muscular; Clin-EvCV = reducción del riesgo de eventos cardiovasculares.

^c *Genes*: se representa el símbolo oficial del nombre de cada uno de los genes según el HGNC [HUGO (The Human Genome Organization) Gene Nomenclature Committee] (<http://www.genenames.org>) cuyos polimorfismos han sido investigados en relación con cualquiera de los 5 fenotipos.

Hasta la fecha sólo en voluntarios sanos se ha investigado el efecto de los polimorfismos del gen del transportador MDR1 (*ABCB1*) sobre el perfil farmacocinético de la lovastatina (véase **Figura 1.20**).

- ***ABCB1***

El único estudio publicado hasta la fecha, no ha detectado diferencias significativas en los parámetros farmacocinéticos de lovastatina en voluntarios sanos en función de los tres polimorfismos en el gen *ABCB1* investigados o de los haplotipos formados por ellos (Keskitalo y cols., 2009b).

1.8.2.- Simvastatina

En los pacientes con hipercolesterolemia familiar (HF) se han investigado los polimorfismos en 4 genes; tres pertenecientes al grupo de dianas terapéuticas (*LDLR*, *APOE* y *SREBF2*) y uno (*PON1*) del grupo ADME (véase **Figura 1.20**).

- ***LDLR***

Siete estudios han investigado la relación entre la respuesta hipolipemiente a simvastatina y los polimorfismos en el gen *LDLR*. No obstante, los resultados obtenidos son contradictorios, con estudios que encuentran una asociación estadísticamente significativa con la eficacia hipolipemiente (Jeenah y cols., 1993; Couture y cols., 1998; Heath y cols., 1999; Chaves y cols., 2001; Vohl y cols., 2002) y otros que no encuentran diferencias en la respuesta hipolipemiente según el genotipo (Sijbrands y cols., 1998; Sun y cols., 1998).

- ***APOE***

Hasta la fecha no se ha descrito una asociación entre la eficacia hipolipemiente en paciente con HF tratados con simvastatina y los polimorfismos en el gen *APOE* (De Knijff y cols., 1990; Heath y cols., 1999; Chaves y cols., 2001; Vohl y cols., 2002).

- ***SREBF2***

En los pacientes con HF tratados con simvastatina se ha objetivado en los portadores de polimorfismos en el gen del factor de transcripción de unión a elementos regulados por esterol 2 (*SREBF2*) un mayor aumento de HDL, sin embargo, la misma eficacia hipolipemiente en cuanto a la reducción de LDL (Fouchier y cols., 2003).

- ***PON1***

El único gen del grupo ADME investigado en los pacientes con HF tratados con simvastatina es el de la paraoxonasa 1 (*PON1*). Sus polimorfismos se han asociado a un mayor aumento en los niveles de HDL (Himbergen y cols., 2005) pero no se han observado diferencias entre los genotipos en la actividad antioxidante de la simvastatina (Tomas y cols., 2000).

En los pacientes con hipercolesterolemia primaria (HP) se han investigado los polimorfismos en 13 genes; 6 pertenecientes al grupo ADME (*CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP2C9*, *CYP2D6*, *ABCB1* y *SLCO1B1*), 6 al de dianas terapéuticas (*HMGCR*, *APOB*, *APOE*, *CETP*, *LIPC* y *SREBF2*), y 3 al de la red fisiopatológica (*IL6*, *LEPR* y *OLR1*). En cambio, en voluntarios sanos los genes investigados han sido sólo y tres todos del grupo ADME (*CYP3A5*, *ABCG2* y *SLCO1B1*).

Genes ADME (véase Figura 1.20)

Los genes ADME cuyos polimorfismos se han investigado en los pacientes con HP y/o voluntarios sanos tratados con simvastatina han sido siete; 4 de enzimas metabolizadoras (*CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP2C9* y *CYP2D6*) y 3 de transportadores de fármacos (*ABCB1*, *ABCG2* y *SLCO1B1*).

• *CYP3A4*

Dos han sido los estudios que han investigado los efectos de los polimorfismos *CYP3A4**4 (Ile118Val) y *CYP3A4**1B (-392A>G) en el gen *CYP3A4* sobre la eficacia hipolipemiente y la miotoxicidad de simvastatina en pacientes con HP. Los resultados relativos a la eficacia hipolipemiente han sido contradictorios con mayor reducción colesterol total y triglicéridos en los portadores del alelo *4 pero sin diferencias en la reducción de LDL (Wang y cols., 2005) ni diferencias en la reducción de colesterol total ni LDL en los portadores del alelo *1B. En estos últimos, tampoco se detectaron diferencias en cuanto a la incidencia de miotoxicidad (Fiegenbaum y cols., 2005b).

• *CYP3A5*

El polimorfismo *CYP3A5**3 del gen *CYP3A5* ha sido investigado en pacientes con HP tratados con simvastatina y los resultados relativos a la eficacia hipolipemiente han sido contradictorios. En un estudio se detectó una mayor reducción de colesterol total y LDL en los portadores del alelo *3 (Kivisto y cols., 2004a) pero no esta asociación no fue confirmada por estudios posteriores (Fiegenbaum y cols., 2005b; Zuccaro y cols., 2007). En cuanto a la miotoxicidad, no se ha observado un mayor riesgo en los portadores del alelo *3 (Fiegenbaum y cols., 2005b; Zuccaro y cols., 2007).

• *CYP2C9*

Los polimorfismos en el gen *CYP2C9* no se han asociado a diferencias en eficacia hipolipemiente ni en el riesgo de miotoxicidad en los pacientes con HP tratados con simvastatina (Zuccaro y cols., 2007).

Estatinas ^a	Fenotipos ^b	Genes ^c														
		HMGCR	LDLR	APOA1	APOA4	APOA5	APOB	APOE	ABCA1	ABCG5	ABCG8	CETP	CYP7A1	LIPC	LPL	MTP
LOV	PK															
	PD-L													↑	↑	
	PD-P															
	Tox															
	Clin-EvCV													↑	↑	
SIM	PK															
	PD-L						↑					↑				
	PD-P															
	Tox															
	Clin-EvCV						↑									
PRA	PK															
	PD-L			↑									↓	↑		
	PD-P						↓									
	Tox															
	Clin-EvCV		↓				↑									
FLU	PK															
	PD-L		↑				↓	↓								
	PD-P															
	Tox															
	Clin-EvCV															
ATO	PK															
	PD-L		↓	↑			↓				↑	↑	↓			
	PD-P															
	Tox															
	Clin-EvCV															
Varias	PK															
	PD-L					↓			↓					↑		
	PD-P															
	Tox															
	Clin-EvCV															





 Presencia de asociación y su dirección (flechas)
 Resultados contradictorios
 No asociación
 No estudiado

Figura 1.21. Estudios farmacogenéticos de genes de dianas terapéuticas en pacientes con hipercolesterolemia primaria.

^a *Estatinas*: LOV = lovastatina; SIM = simvastatina; PRA = pravastatina; FLU = fluvastatina; ATO = atorvastatina; Varias = representa a los estudios en los que se administran diferentes estatinas pero el análisis es conjunto; Los polimorfismos de estos genes no han sido estudiados en el resto de estatinas.

^b *Fenotipos*: PK = fenotipo farmacocinético (exposición plasmática); PD-L = respuesta hipolipemiente; PD-P = respuesta pleiotrópica; Tox = toxicidad muscular; Clin-EvCV = reducción del riesgo de eventos cardiovasculares.

^c *Genes*: se representa el símbolo oficial del nombre de cada uno de los genes según el HGNC [HUGO (The Human Genome Organization) Gene Nomenclature Committee] (<http://www.genenames.org>) cuyos polimorfismos han sido investigados en relación con cualquiera de los 5 fenotipos.

• CYP2D6

Los estudios que han investigado la relación de los polimorfismos en el gen CYP2D6 con la respuesta hipolipemiente y la miotoxicidad asociada al tratamiento en pacientes con HP tratados con simvastatina no son concluyentes. Unos observan una mejor respuesta hipolipemiente en los metabolizadores lentos (*1/*4 o *4/*4) (Mulder y cols., 2001; Mulder y cols., 2003) en cambio otros no detectan relación

alguna con la respuesta hipolipemiente (Geisel y cols., 2002). Lo mismo ocurre con el riesgo de miotoxicidad con datos a favor de un mayor riesgo en los metabolizadores lentos (Mulder y cols., 2001) y datos en contra de esta asociación (Zuccaro y cols., 2007).

- **ABCB1**

Los polimorfismos en el gen *ABCB1* han sido investigados en relación a la eficacia hipolipemiente y miotoxicidad por simvastatina en pacientes con HP. Los portadores homocigotos del alelo T del polimorfismo c.1236C>T (rs1128503) presentaron mayor reducción de colesterol total (>4.8%) y LDL (>3.8%). Las diferencias fueron, también, significativas y de similar magnitud para el polimorfismo c.2677G>A/T (rs2032582). En el caso del polimorfismo c.3435C>T (rs1045642) las diferencias no fueron estadísticamente significativas, aunque el análisis de los haplotipos que incluían a los 3 polimorfismos (T-no G-T) sí detectaron diferencias significativas (Fiegenbaum y cols., 2005b). En relación a la miotoxicidad, la frecuencia alélica de los tres polimorfismos 1236T, 2677 no G y 3435T fue inferior entre los pacientes que desarrollaron mialgia en comparación con los que permanecieron asintomáticos. El análisis haplotípico, también, demostró que la frecuencia de los haplotipos T-no G-T fue 21.4% inferior en el grupo de pacientes con mialgia respecto a los asintomáticos (Fiegenbaum y cols., 2005b). Estos resultados sugieren que los polimorfismos en el *ABCB1* asociados con cierta reducción en su actividad transportadora se asocian con mayor respuesta hipolipemiente y menor incidencia de mialgias entre los pacientes tratados con simvastatina. Otro estudio reciente (Becker y cols., 2009) investigó el impacto de los polimorfismos c.1236C>T (rs1128503), c.2677 G>T/A (rs2032582) y c.3435C>T (rs1045642) en el gen *ABCB1* sobre la eficacia hipolipemiente en 85 pacientes holandeses (55% mujeres) de una edad media de 72 años que iniciaban tratamiento con simvastatina a dosis bajas (en el 98% de la población las dosis diarias fueron de 10 o 20 mg y sólo en el 2% de 40 mg). En él los portadores homocigotos de cualquiera de los 3 polimorfismos investigados presentaron una mayor reducción de colesterol total al segundo mes de tratamiento pero sólo los SNPs c.1236C>T (rs1128503) y c.3435C>T (rs1045642) se asociaron también a una mayor reducción de LDL. Los portadores de los haplotipos TTT y CGT presentaron una mayor reducción de LDL y los portadores del haplotipo TTT una mayor reducción de colesterol total respecto al haplotipo de referencia CGC. El análisis estratificado por sexos reveló que esta asociación desaparecía en las mujeres. En cambio entre los hombres los portadores de los haplotipos TTT o CGT presentaban una mayor reducción de colesterol total y LDL que los portadores del

haplotipo de referencia CGC. Sin embargo, la principal limitación de este estudio radica en que los valores P no están corregidos para comparaciones múltiples.

- **SLCO1B1**

El primer estudio farmacogenómico pangenómico o de amplia cobertura genómica que investigaba los factores genéticos en la predisposición a desarrollar miopatía (dolores musculares con elevación de CPK) asociada al tratamiento con simvastatina (80 mg diarios) en el contexto del ensayo clínico SEARCH identificó como factor de riesgo al polimorfismo c.521T>C (alelo *5 o rs4149056) en el gen SLCO1B1 (Link y cols., 2008). El riesgo (OR) de desarrollar miopatía fue 4.5 veces mayor (IC95%: 2.6 – 7.7) por cada copia del alelo de riesgo C y 16.9 veces superior (IC95%: 4.7 – 61.1) en los individuos con dos alelos de riesgo (CC) respecto a los portadores homocigotos del alelo silvestre (TT). De este modo, el 60% de los casos de miopatía podrían ser explicados por este polimorfismo. Pero además, demostraron, en la cohorte de replicación en la que los pacientes tomaban 40 mg diarios de simvastatina, que los portadores del alelo C obtenían una menor reducción en sus niveles de LDL, aunque de escasa magnitud ($1.28 \pm 0.25\%$ menor por cada alelo C, $p < 1 \times 10^{-4}$). El otro hallazgo interesante fue que el polimorfismo c.388A>G (alelo *1b o rs2306283) asociado, supuestamente, con un aumento de la actividad transportadora del SLCO1B1, se asoció con una mejor respuesta hipolipemiente, aunque igualmente de escasa magnitud (la reducción de LDL fue $0.63 \pm 0.18\%$ mayor por cada alelo G, $P = 5 \times 10^{-4}$).

En voluntarios sanos se ha investigado el impacto sobre los fenotipos cinéticos y respuesta dinámica en fases iniciales del polimorfismo genético en genes del grupo ADME

- **CYP3A5**

En voluntarios sanos que recibieron una dosis única de simvastatina de 20 mg los individuos con genotipo *3/*3 (no expresan CYP3A5) tenían un AUC de lactona de simvastatina un 231% mayor y un aclaramiento aparente (Cl/F) un 72% inferior que los homocigotos para el alelo silvestre (*1/*1, que expresaban CYP3A5 funcional) (Kim y cols., 2007). No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos respecto a la C_{\max} ni la vida media de eliminación. La presencia del alelo *3 en el modelo de regresión con el resto de covariables demográficas explicaba el 30% y el 45% de la variabilidad en el AUC y el Cl/F de la lactona de simvastatina, respectivamente.

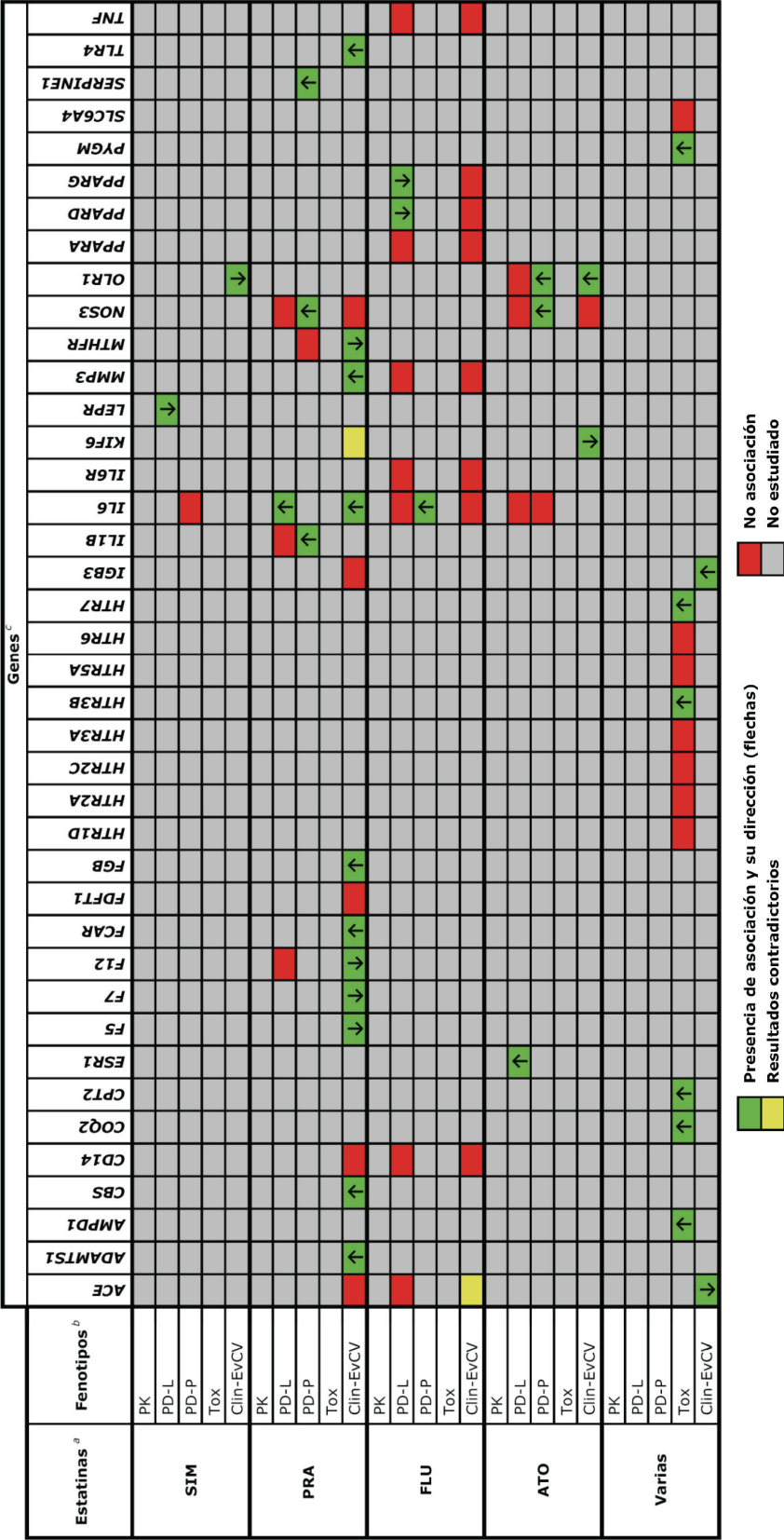


Figura 1.22. Estudios farmacogenéticos de genes de la red fisiopatológica de la aterosclerosis en pacientes con hipercolesterolemia primaria. ^a Estatinas: SIM = simvastatina; PRA = pravastatina; FLU = fluvastatina; ATO = atorvastatina; Varías = representa a los estudios en los que se administran diferentes estatinas pero el análisis es conjunto; Los polimorfismos de estos genes no han sido estudiados en el resto de estatinas. ^b Fenotipos: PK = fenotipo farmacocinético (exposición plasmática); PD-L = respuesta hipolipemizante; PD-P = respuesta pleiotrópica; Tox = toxicidad muscular; Clin-EvCV = reducción del riesgo de eventos cardiovasculares. ^c Genes: se representa el símbolo oficial del nombre de cada uno de los genes según el HGNC [HUGO (The Human Genome Organization) Gene Nomenclature Committee] (<http://www.genenames.org>) cuyos polimorfismos han sido investigados en relación con cualquiera de los 5 fenotipos.

- **ABCG2**

Treinta y dos voluntarios sanos que recibieron una dosis única de simvastatina de 40 mg por vía oral fueron genotipados para el polimorfismo c.421C>A (p.141Gln>Lys, rs2231142) del gen ABCG2 asociado a menor capacidad transportadora (Keskitalo y cols., 2009c). El AUC_{0-∞} de la lactona de simvastatina en los portadores homocigotos AA fue 111% mayor que en los CC y el cociente hidroxiácido de simvastatina/lactona en los voluntarios con genotipo AA fue 46% menor que en los con genotipo CC. No se detectaron diferencias significativas entre los genotipos para el AUC_{0-∞} del hidroxiácido de simvastatina.

- **SLCO1B1**

En voluntarios sanos con genotipo que recibieron una dosis única de 40 mg de simvastatina se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros cinéticos del hidroxiácido de simvastatina entre los genotipos del polimorfismo c.521T>C (alelo *5 o rs4149056) del gen SLCO1B1 (Pasanen y cols., 2006). El AUC y la C_{max} del hidroxiácido de simvastatina fueron 221% y 200% mayores en los individuos con genotipo CC respecto a los con genotipo CT o TT, respectivamente; no se detectaron diferencias en la t_{1/2} entre los individuos con los tres genotipos. Las diferencias en los mismos parámetros cinéticos de la lactona de simvastatina, aunque no alcanzaron la significación estadística, siguieron la misma tendencia, es decir, los valores de AUC y C_{max} fueron más altos en los individuos con genotipo CC respecto a los con genotipo CT o TT. En otro estudio (Pasanen y cols., 2008b), también con voluntarios sanos, no se detectaron diferencias significativas en la reducción de la biosíntesis endógena de colesterol en las primeras 12 h post dosis única de 40 mg de simvastatina entre los genotipos del mismo polimorfismo, c.521T>C (*5 o rs4149056).

Genes de las Dianas terapéuticas (véase Figura 1.21)

Los 6 genes cuyos polimorfismos se han investigado en los pacientes con HP tratados con simvastatina son el de la HMG-CoA reductasa (HMGCR), los de las apolipoproteínas APOB y APOE, el de la proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP), el de la lipasa hepática (*LIPC*) y el del gen del factor de transcripción de unión a elementos regulados por esterol 2 (*SREBF2*).

- **HMGCR**

Ying y cols. (2007) observaron una menor reducción de VLDL en diabéticos tipo 2 tratados con 20 mg diarios de simvastatina con el genotipo AA respecto a los Aa o aa del polimorfismo *ScrF I* (A/a) localizado en el segundo intrón del gen *HMGCR*. Aunque en los homocigotos AA se observó una tendencia de una mejor respuesta

hipolipemiente en términos de colesterol total no alcanzó la significación estadística.

- **APOB**

Los pacientes con HP portadores del genotipo X- del polimorfismo *Xba I* (X-/X+) del gen *APOB* presentaron una mayor reducción en los niveles de colesterol total a las 12 semanas de tratamiento con 5 mg diarios de simvastatina (Ye y cols., 2003).

- **APOE**

El efecto del polimorfismo en el gen *APOE* ha sido extensamente investigado en los pacientes con HP tratados con simvastatina en relación con la eficacia hipolipemiente, la miotoxicidad y la eficacia clínica. Los datos respecto a su relación con la respuesta hipolipemiente son contradictorios con estudios que describen una asociación estadísticamente significativa (Zuccaro y cols., 2007; Tavintharan y cols., 2007; Ye y cols., 2003) y otros que no (Nestel y cols., 1997; Fiegenbaum y cols., 2005a). El único estudio publicado hasta la fecha que ha investigado su posible relación con la miotoxicidad no ha demostrado una asociación con la misma (Zuccaro y cols., 2007). En cambio, Gerdes y cols. (2000) han demostrado diferencias entre los genotipos en el beneficio del tratamiento con simvastatina evaluado como reducción de la mortalidad cardiovascular. Los portadores del alelo $\epsilon 4$ se beneficiaban más con el tratamiento con simvastatina al presentar una reducción absoluta el riesgo de muerte cardiovascular 33% mayor que los no portadores.

- **CETP**

Los polimorfismos en el gen *CETP* investigados en los pacientes con HP tratados con simvastatina se han asociado a un mayor aumento de HDL (Fiegenbaum y cols., 2005a; Anagnostopoulou y cols., 2007) y mayor reducción de triglicéridos (Anagnostopoulou y cols., 2007), sin embargo, no se han detectado diferencias en cuanto a la reducción de LDL (Anagnostopoulou y cols., 2007)

- **LIPC**

No se han encontrado diferencias en la respuesta hipolipemiente en función de los polimorfismos en el gen de la lipasa hepática (*LIPC*) en los pacientes con HP tratados con simvastatina (Fiegenbaum y cols., 2005a).

- **SREBF2**

En los pacientes con HP, al igual que en los con HF, tratados con simvastatina se ha objetivado en los portadores de polimorfismos en el gen *SREBF2* un mayor aumento de HDL, sin embargo, la misma eficacia hipolipemiente en cuanto a la reducción de LDL (Fouchier y cols., 2003).

Genes de la red fisiopatológica de la aterosclerosis (véase Figura 1.22)

Los 3 genes de la red fisiopatológica cuyos polimorfismos se han investigado en los pacientes con HP tratados con simvastatina son el de la interleuquina 6 (*IL6*), el gen del receptor de leptina (*LEPR*) y del el gen del receptor de las LDL oxidadas parecido al de la leptina tipo 1 (*OLD1*).

- ***IL6***

Potaczek y cols. (2006) (Potaczek y cols., 2006) no encontraron diferencias en la respuesta antiinflamatoria (efectos pleiotópicos) en los pacientes con HP tratados con simvastatina en función de los polimorfismos del gen de la interleuquina 6 (*IL6*) investigados, pero si en los tratados con fenofibrato.

- ***LEPR***

En los pacientes con HP tratados con simvastatina los polimorfismos en el gen del receptor de leptina (*LEPR*) se asociaron con una menor eficacia hipolipemiente, sobre todo en los hombres (Takahashi-Yasuno y cols., 2003).

- ***OLR1***

Los pacientes con HP en tratamiento con simvastatina portadores de polimorfismos en el gen del receptor de las LDL oxidadas parecido al de la leptina tipo 1 (*OLD1*) se benefician menos de la reducción de eventos cardiovasculares ya que tienen mayor riesgo de sufrir nuevo evento que los no portadores (Puccetti y cols., 2007).

1.8.3.- Pravastatina

La pravastatina es estatina con el mayor número de estudios farmacogenéticos en voluntarios sanos, pacientes con hipercolesterolemia familiar o con hipercolesterolemia primaria en los cuales se han investigado 37 genes distintos; 9 han sido genes ADME, 14 de dianas terapéuticas y 19 involucrados en las redes fisiopatológicas de la aterosclerosis.

En los pacientes con hipercolesterolemia familiar (HF) se han investigado los efectos sobre la respuesta hipolipemiente al tratamiento con pravastatina de varios polimorfismos en cuatro genes, dos relacionados con dianas terapéuticas (*LDLR*, *APOE*) y dos con las vías ADME (*ABCB1*, *SLCO1B1*) (véase **Figura 1.19**).

- ***LDLR***

Kajinami y cols. (1998) observaron mejor respuesta hipolipemiente (reducción de colesterol total y LDL) al tratamiento combinado con pravastatina y colestiramina en dos grupos de pacientes con HF causada por distintas mutaciones en el gen *LDLR*.

- **APOE**

No se han observado diferencias entre los diferentes genotipos ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$) del gen *APOE* en la respuesta hipolipemiente (reducción de colesterol total o LDL) en los pacientes con HF tratados con pravastatina (Berglund y cols., 1993).

- **ABCB1**

Hedman y cols. (2006) analizaron el efecto de dos polimorfismos el c.2677 G>T/A (rs2032582) y el c.3435C>T (rs1045642) en el gen *ABCB1* sobre los parámetros cinéticos y de respuesta hipolipemiente en 20 niños de edades comprendidas entre 5 y 16 años con hipercolesterolemia familiar tratados con pravastatina 10mg diarios durante 2 meses y no encontraron diferencias estadísticamente significativas.

- **SLCO1B1**

En el mismo grupo de niños con hipercolesterolemia familiar los autores (Hedman y cols., 2006) investigaron, también, el efecto de dos polimorfismos, el -11187G>A (rs4149015) y el c.521T>C (alelo *5 o rs4149056), en el gen *SLCO1B1*. En los individuos heterocigotos (GA) para el polimorfismo -11187G>A (en su población de estudio no hubo portadores del genotipo AA) la C_{\max} y el AUC de pravastatina fueron un 81% y un 74% más bajos que en los portadores del genotipo silvestre (GG), respectivamente. Además, el aumento de HDL fue un 20% mayor en los individuos con genotipo GA respecto a los GG pero no hubo diferencias en la reducción de colesterol total o LDL tras 2 meses de tratamiento con pravastatina 10mg diarios. Los heterocigotos (TC) para el polimorfismo c.521T>C siguieron la misma tendencia, con C_{\max} y AUC un 49% y un 26% más bajos que en los TT, respectivamente; sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Tampoco hubo diferencias en la respuesta hipolipemiente. Cabe señalar que la dirección del efecto sobre los parámetros cinéticos de pravastatina de ambos polimorfismos es el contrario del observado en voluntarios sanos.

En los pacientes con hipercolesterolemia primaria (HP) tratados con pravastatina y/o en voluntarios sanos se han investigado los polimorfismos en 9 genes ADME, 16 genes de dianas terapéuticas, y 14 genes de las redes fisiopatológicas.

Genes ADME (véase Figura 1.20)

Los genes ADME cuyos polimorfismos se han investigado son los de las enzimas metabolizadoras de fármacos *CYP3A4*, *CYP3A5* y el de la paraoxonasa 1 (*PON1*), y los de los transportadores *ABCB1*, *ABCB11*, *ABCC2*, *ABCG2*, *SLCO1B1* y *SLC22A8*.

- **CYP3A4**

Chasman y cols. (2004) no han detectado diferencias en la respuesta hipolipemiente en paciente con HP tratados con pravastatina en función de los polimorfismos del gen de la *CYP3A4*.

- **CYP3A5**

Dos estudios (Chasman y cols., 2004; Kivisto y cols., 2004a) no han encontrado diferencias en la respuesta hipolipemiente a pravastatina entre los pacientes con HP en función del genotipo de *CYP3A5**3.

- **PON1**

Malin y cols. (2001) han observado que en los pacientes con HP los polimorfismos en el gen de la paraoxonasa 1 (*PON1*) se asociaban a un mayor aumento de HDL y de ApoI en respuesta al tratamiento con pravastatina.

- **ABCB1**

Dos han sido los estudios que han investigado efecto de los polimorfismos en el gen *ABCB1* (Niemi y cols., 2004) y los haplotipos que constituyen (Keskitalo y cols., 2009b) sobre los parámetros cinéticos de pravastatina en voluntarios sanos. Sin embargo, ninguno ha podido demostrar diferencias significativas entre los distintos genos o haplotipos. En otro estudio con pacientes trasplantados cardíacos pediátricos con hipercolesterolemia tratados con pravastatina Hedman y cols., (2006), tampoco observaron diferencias significativas en los parámetros cinéticos o la respuesta hipolipemiente entre los distintos genotipos. En un estudio reciente, Mega y cols. (2009) observaron que en los pacientes con HP tratados con pravastatina 40 mg diarios portadores del genotipo T/A (no-G) del polimorfismo rs2032582 (c.2677G>T/A) del gen *ABCB1* presentaban una peor respuesta hipolipemiente siendo su reducción en los niveles de LDL a los treinta días del inicio del tratamiento entre 3 y 6% menor.

- **ABCB11**

En un estudio con voluntarios sanos Ho y cols. (2007) no detectaron diferencias significativas en los parámetros cinéticos de pravastatina entre los genotipos de los polimorfismos investigados en el gen *ABCB11*.

- **ABCC2**

En un primer estudio Niemi y cols. (2006b) describieron la existencia en voluntarios sanos de diferencias en los parámetros cinéticos de pravastatina en función del genotipo de los polimorfismos investigados en el gen *ABCC2* que no se han confirmado en varios estudios posteriores (Niemi y cols., 2004; Ho y cols., 2007; Ide y cols., 2009).

- **ABCG2**

Ninguno de los dos estudios, publicados hasta la fecha, han encontrado (Ho y cols., 2007; Keskitalo y cols., 2009c) diferencias en los parámetros cinéticos de pravastatina en voluntarios sanos en función del genotipo de los polimorfismos investigados en el gen *ABCG2*.

- **SLCO1B1**

El mayor número de estudios farmacogenéticos de pravastatina se han centrado en el estudio de los polimorfismos en el gen *SLCO1B1*. Su relación con los parámetros cinéticos y de eficacia hipolipemiente fundamentalmente en voluntarios sanos pero también en pacientes con hipercolesterolemia. Su repercusión sobre la cinética de la pravastatina en voluntarios sanos ha sido investigada en 11 estudios farmacogenéticos (Nishizato y cols., 2003; Mwinyi y cols., 2004; Niemi y cols., 2004 y 2005; Maeda y cols., 2006; Igel y cols., 2006; Niemi y cols., 2006a y 2006b; Ho y cols., 2007; Deng y cols., 2008; Ide y cols., 2009). Los portadores de polimorfismos asociados a una reducción de la actividad del transportador presentaron un aumento de los valores de la C_{max} y el AUC_t de pravastatina. EN cambio, sólo algunos estudios observaron el efecto opuesto en los sujetos con polimorfismos asociados a aumento de la actividad transportadora (Mwinyi y cols., 2004).

Los efectos de los polimorfismos del *SLCO1B1* sobre la eficacia hipolipemiente de las estatinas han sido investigados en 6 estudios farmacogenéticos, la mitad en voluntarios sanos (Niemi y cols., 2005; Igel y cols., 2006; Pasanen y cols., 2008b) y la otra mitad en pacientes con hipercolesterolemia (Hedman y cols., 2006; Takane y cols., 2006; Zhang y cols., 2007) objetivando cierta asociación de los polimorfismos asociados a reducción de la actividad transportadora con peor respuesta.

- **SLC22A8**

Nishizato y cols. (2003) han analizado el efecto de los polimorfismos en el gen del transportados *SLC22A8* sin embargo no han hallado diferencias en los parámetros cinéticos de pravastatina en voluntarios sanos en función del genotipo de los polimorfismos investigados.

Genes de las Dianas terapéuticas (véase Figura 1.21)

Los 16 genes cuyos polimorfismos se han investigado en los pacientes con HP tratados con pravastatina son el de la HMG-CoA reductasa (*HMGCR*), el del receptor de LDL (*LDLR*), los de las apolipoproteínas *APOA1*, *APOA4*, *APOB* y *APOE*, los de las proteínas transportadoras *ABCA1*, *ABCG5*, *ABCG8* y el de la proteína transportadora

de ésteres de colesterol (*CETP*), los de las enzimas *CYP7A1*, lipoproteínlipasa (*LPL*), lipasa hepática (*LIPC*), el de la proteína transportadora de triglicéridos microsomales (*MTTP*), el de la proproteína-convertasa subtilisina/quexina tipo 9 (*PCSK9*) y el de la chaperona del factor de transcripción regulada por esterol (*SCAP*).

- **HMGCR**

Los resultados de los estudios que han investigado la asociación de los polimorfismos en el gen de la HMG-CoA reductasa (HMGCR) con la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con pravastatina son contradictorios con datos a favor (Chasman y cols., 2004) y en contra (Polisecki y cols., 2008). Los datos disponibles sugieren que estos polimorfismos no se asocian a diferencias en la reducción de eventos cardiovasculares (Polisecki y cols., 2008).

- **LDLR**

Al igual que en caso anterior, los estudios publicados que han investigado la asociación de los polimorfismos en el gen *LDLR* con la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con pravastatina ofrecen resultados contradictorios con datos a favor (Lahoz y cols., 2005a) y en contra (Chasman y cols., 2004; Polisecki y cols., 2008). Sin embargo, los datos disponibles sugieren que estos polimorfismos se asocian a una menor reducción de eventos cardiovasculares (Polisecki y cols., 2008).

- **APOA1**

Lahoz y cols. (2003) han observado que en los pacientes con HP en tratamiento con pravastatina los polimorfismos en el gen *APOA1* se asocian a un mayor incremento de HDL.

- **APOA4**

Ordovas y cols. (1995) han investigado la asociación de los polimorfismos en el gen *APOA4* con la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con pravastatina y no han encontrado una asociación estadísticamente significativa.

- **APOB**

Al igual que en el caso anterior, los polimorfismos en el gen *APOB* tampoco se han asociado a la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con pravastatina (Chasman y cols., 2004).

- **APOE**

El efecto de las variantes alélicas $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$ en el gen *APOE* sobre la eficacia hipolipemiente, antiinflamatoria y la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares han sido investigado intensamente en los pacientes con HP tratados con pravastatina.

Los portadores del alelo $\epsilon 4$ presentan una menor eficacia hipolipemiente con una reducción en los niveles de LDL entre un 6 y un 9% inferior que los no portadores (Ordovas y cols., 1995; Takane y cols., 2006; Mega y cols., 2009). En cambio, los portadores del alelo $\epsilon 2$ presentan una mejor respuesta hipolipemiente con un mayor aumento de los niveles de HDL y una mayor reducción del cociente LDL/HDL respecto a los portadores de los alelos $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$ (Maitland-van der Zee y cols., 2006). Sin embargo, en al menos otros cuatro estudios estas diferencias en la respuesta hipolipemiente entre los portadores de los distintos alelos del gen APOE no se han confirmado (Peña y cols., 2002; Chasman y cols., 2004; Lahoz y cols., 2005a; 17852827_Ilveskoski y cols., 2007).

Hasta ahora sólo un estudio ha investigado el efecto de estas variantes alélicas sobre los efectos pleiotrópicos de la pravastatina. Ilveskoski y cols. (2007) (Ilveskoski y cols., 2007) trataron con pravastatina 40 mg diarios a 44 varones finlandeses voluntarios sanos (moderadamente hipercolesterolémicos) de mediana edad (35 años) y a los 6 meses del inicio del tratamiento observaron que los individuos con genotipo APOE $\epsilon 3/\epsilon 3$ (n=9) habían experimentado una mejoría del 32% en sus índices de flujo coronario, en cambio, no se había producido ninguna mejoría respecto al momento basal en los individuos con genotipo $\epsilon 4/\epsilon 3$ (n=9).

Dos estudios han investigado el efecto de los genotipos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$ del gen APOE sobre los parámetros angiográficos y la mortalidad global en los pacientes con HP tratados con pravastatina. En el primer caso, Maitland-van der Zee y cols. (2006) no lograron detectar diferencias en la mejora de los parámetros angiográficos entre los portadores de los genotipos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$. No obstante, Chiodini y cols. (2007) observaron que los portadores alelo APOE $\epsilon 4$ que habían sufrido un infarto agudo de miocardio se beneficiaban más de la profilaxis secundaria con pravastatina al tener una mortalidad de cualquier causa 3.43% menor que los no portadores (1.85% vs 5.28% de muertes en 2 años de seguimiento medio).

- **ABCA1**

En los pacientes con HP tratados con pravastatina los polimorfismos en el gen ABCA1 no se han asociado a diferencias significativas en la respuesta hipolipemiente (Zwarts y cols., 2002)

- **ABCG5 y ABCG8**

Los polimorfismos en los genes ABCG5 y ABCG8, tampoco se han asociado a diferencias en la respuesta hipolipemiente en los pacientes tratados con pravastatina (Chasman y cols., 2004).

- **CETP**

En un primer estudio (Winkelmann y cols., 2003) se observó que los portadores del polimorfismo TaqIB (B1>B2, rs708272) en el gen *CETP* y varios haplotipos presentaban una mejor respuesta hipolipemiente al tratamiento con pravastatina con un mayor aumento de los niveles de HDL y una mayor reducción de los triglicéridos que los no portadores, no obstante, estas diferencias no fueron confirmadas en varios estudios posteriores (Chasman y cols., 2004; Marschang y cols., 2006) ni en un metanálisis (Boekholdt y cols., 2005).

La investigación de la asociación del polimorfismo TaqIB (B1>B2, rs708272) en el gen *CETP* con la eficacia clínica (respuesta angiográfica y reducción de eventos o mortalidad cardiovasculares) ha obtenido resultados contradictorios. A un primer estudio (Kuivenhoven y cols., 1998) que objetivó diferencias en la respuesta angiográfica al tratamiento con pravastatina entre los individuos con distintos genotipos TaqIB (B1>B2) le siguieron cinco estudios (Freeman y cols., 2003; Carlquist y cols., 2003; de Grooth y cols., 2004; Klerkx y cols., 2004; Marschang y cols., 2006), además de un metanálisis (Boekholdt y cols., 2005), que no fueron capaces de demostrar diferencias en la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares entre los distintos genotipos. Sin embargo, un estudio reciente, realizado por Regieli y cols. (2008) en la cohorte REGRESS, ha demostrado que el polimorfismo TaqIB (B1>B2, rs708272) se asocia a una peor respuesta a la profilaxis secundaria con pravastatina 40 mg diarios. En los hombres por cada alelo mutado B2 los "cocientes de riesgos" o *hazards ratios* (HR) ajustados de mortalidad a 10 años por enfermedad aterotrombótica, cardiopatía isquémica o por cualquier causa fueron de 1.59 ($P=0.01$), 1.53 ($P=0.03$) y 1.30 ($P=0.04$), respectivamente.

- **CYP7A1**

Han sido dos los estudios que han investigado el efecto del polimorfismo -204A>C localizado en el promotor del gen *CYP7A1* sobre la eficacia hipolipemiente y la reducción de eventos cardiovasculares ha sido investigado en pacientes con HP tratados con pravastatina. El primero de ellos ha visto que los portadores homocigotos CC presentan una peor respuesta hipolipemiente con una reducción en los niveles de LDL al año de tratamiento 9% menor que el resto de genotipos (AA o AC) (Takane y cols., 2006). En cambio, Hofman y cols. (2005) observaron que los pacientes con genotipo CC se beneficiaban menos del tratamiento con pravastatina ya que presentaban una mayor progresión angiográfica de la aterosclerosis (focal y difusa) tras 2 años de tratamiento que los individuos con genotipo AA. Sin embargo, estas diferencias no se tradujeron en una menor reducción del riesgo de

eventos cardiovasculares en los pacientes con genotipo CC respecto al reto de genotipos (AA o AC).

- **LPL**

Jukema y cols. (1996) observaron que los pacientes tratados con pravastatina portadores de polimorfismos en el gen *LPL* presentaron la misma progresión angiográfica de la aterosclerosis que los no portadores con una reducción en la incidencia de eventos cardiovasculares (supervivencia libre de eventos) similar.

- **LIPC**

Lahoz y cols. (2005b) investigando el efecto del polimorfismo -514C>T en el gen *LIPC* sobre la eficacia hipolipemiente en pacientes tratados con 20 mg al día de pravastatina durante 3 meses se observaron que el aumento en los niveles de HDL era del 7% en los portadores del alelo T (CT o TT) y prácticamente nulo en los pacientes con el genotipo CC.

- **MTTP**

Los polimorfismos en el gen *MTTP* no se han asociado en pacientes con HP tratados con pravastatina con diferencias en la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares (Ledmyr y cols., 2004).

- **PCSK9**

Tampoco los polimorfismos en el gen *PCSK9* se han asociado con diferencias en la eficacia hipolipemiente en los pacientes tratados con pravastatina y aunque los portadores del alelo T del polimorfismo rs11591147 presentaron un descenso en el riesgo de eventos cardiovasculares 9% mayor que los no portadores estas diferencias no alcanzaron la significación estadística (Polisecki y cols., 2008).

- **SCAP**

Fan y cols. (2001) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen *SCAP* sobre la eficacia hipolipemiente en los pacientes tratados con pravastatina pero no han encontrado diferencias entre los individuos con diferentes genotipos.

Genes de la Red fisiopatológica de la aterosclerosis (véase Figura 1.22)

Entre los 19 genes de la red fisiopatológica de la arteriosclerosis cuyos polimorfismos han sido investigados en los pacientes con HP tratados con pravastatina se encuentran los de varias enzimas como la enzima convertidora de angiotensina (*ACE*), la metalopeptidasa tipo 1 con motivo tipo 1 de trombospondina (*ADAMTS1*), la cistatión-β-sintasa (*CBS*), el de la molécula CD14 (*CD14*), los de los factores de coagulación V (*F5*), VII (*F7*) y XII (*F12*), el del receptor del fragmento cristizable (Fc) de los anticuerpos IgA (*FCAR*), el de la farnesil-difosfato farnesil transferasa tipo 1 (*FDFT1*), el de la cadena β del fibrinógeno (*FGB*), el de la

glicoproteína plaquetaria IIIa (*IGB3*), el de la interleuquina-1 β (*IL1B*), el de la interleuquina-6 (*IL6*), el del miembro 6 de la familia de quinesina (*KIF6*), el de la metaloproteasa de la matriz extracelular 3 (*MMP3*), el de la metinil-tetrahidro folato reductasa (*MTHFR*), el de la óxido nítrico sintasa endotelial (*NOS3*), el del inhibidor del activador del plasminógeno tisular tipo 1 (*SERPINE1*), y por último, el del receptor "toll-like" 4 (*TLR4*).

- **ACE**

Ninguno de los dos estudios que han investigado el efecto del polimorfismo *indel* (D>I) en el gen la enzima convertidora de angiotensina (*ACE*) sobre la reducción de eventos cardiovasculares en los pacientes con HP tratados con pravastatina ha encontrado diferencias entre los individuos con los genotipos DD, DI o II (Bray y cols., 2001; Maitland-van der Zee y cols., 2007).

- **ADAMTS1**

Sabatine y cols. (2008) han observado que los hombres tratados con pravastatina en el contexto de los ensayos CARE y WOSCOP homocigotos (CC) para el polimorfismo rs428785 (c.679G>C, p.227A>P) del gen la metalopeptidasa tipo 1 con motivo tipo 1 de trombospondina (*ADAMTS1*) se beneficiaban más del tratamiento presentando una mayor reducción de eventos coronarios fatales o infartos de miocardio no fatales que los individuos con el genotipo GC o GG.

- **CBS**

Maitland-van der Zee y cols. (2008) han observado que los pacientes tratados con pravastatina portadores del genotipo ins/ins o del/ins c.844ins68 (del>ins) del gen de la cistación- β -sintasa (*CBS*) se benefician del tratamiento hipolipemiente presentando una reducción significativa del riesgo de enfermedad coronaria, en cambio los individuos con genotipo del/del no hay una reducción significativa del riesgo.

- **CD14**

Agema y cols. (2004a) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen *CD14* sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con pravastatina pero no han encontrado diferencias entre los individuos con diferentes genotipos.

- **F5 y F7**

Maitland-van der Zee y cols. (2009) han investigado el efecto de los polimorfismos en los genes de los factores de coagulación V (*F5*) y VII (*F7*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con pravastatina y han encontrado que los portadores de las variantes alélicas se benefician menos del

tratamiento hipolipemiente al presentar menor reducción en el riesgo de eventos cardiovasculares que los no portadores.

- **F12**

Zito y cols. (2002) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen del factor de coagulación XII (*F12*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con pravastatina y han encontrado que los portadores de las variantes alélicas se benefician menos o no se benefician del tratamiento hipolipemiente al presentar menor reducción en el riesgo de eventos cardiovasculares que los no portadores. No obstante, no se han detectado diferencias significativas en la respuesta hipolipemiente entre los distintos genotipos.

- **FCAR**

Iakoubova y cols. (2006) han investigado el efecto del polimorfismo rs11666735 (c.337G>A, p.101D>N) en el gen del receptor del fragmento cristizable (Fc) de los anticuerpos IgA (*FCAR*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con pravastatina en el contexto del ensayo clínico CARE y han encontrado que los individuos portadores del alelo A (GA o AA) se benefician más del tratamiento hipolipemiente presentando una mayor reducción relativa del riesgo de eventos cardiovasculares que los no portadores.

- **FDFT1**

Chasman y cols. (2004) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen de la farnesil-difosfato farnesil transferasa tipo 1 (*FDFT1*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con pravastatina pero no han encontrado diferencias entre los individuos con diferentes genotipos.

- **FGB**

De Maat y cols. (1998) han investigado el efecto del polimorfismo -455G>A en el promotor del gen de la cadena β del fibrinógeno (*FGB*) sobre la respuesta angiográfica en los pacientes tratados con pravastatina y han encontrado que los individuos con genotipo AA se benefician más del tratamiento hipolipemiente presentando una menor progresión angiográfica de la aterosclerosis que los individuos con genotipos GG o GA.

- **IGB3**

Bray y cols. (2001) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen de la glicoproteína plaquetaria IIIa (*IGB3*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con pravastatina pero no han encontrado diferencias entre los individuos con diferentes genotipos.

- ***IL1B***

Lehtimäki y cols. (2003) han observado que en voluntarios sanos tratados con pravastatina portadores del polimorfismo -511A1>A2 en el promotor del gen *IL1B* presentan un mayor aumento de la mejora de la reactividad coronaria (mayor flujo coronario inducido por adenosina) que los no portadores. A diferencia de su asociación con la actividad pleiotrópica de la pravastatina no hubo diferencias en la respuesta hipolipemiente entre los distintos genotipos.

- ***IL6***

Basso y cols. (2002) han investigado el efecto del polimorfismo -174G>C en el promotor del gen de la interleuquina-6 (*IL6*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con pravastatina en el contexto del ensayo clínico WOSCOP y han encontrado que los portadores del genotipo GG se benefician más del tratamiento hipolipemiente al presentar mayor reducción en el riesgo de eventos cardiovasculares que los portadores de los genotipos GG o GC. Además, los individuos con genotipo CC presentaron una reducción en los niveles de LDL mayor que en los genotipos GG o GC.

- ***KIF6***

Iakoubova y cols. (2008a) han investigado el efecto del polimorfismo rs20455 (c.2155T>C, p.719W>R) del gen del miembro 6 de la familia de quinesina (*KIF6*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los hombres tratados con 40 mg diarios de pravastatina en el contexto de los ensayos clínicos CARE y WOSCOP, y han encontrado que los portadores del genotipo CC se benefician más del tratamiento hipolipemiente al presentar mayor reducción en el riesgo de eventos cardiovasculares que los portadores de los genotipos TC o TT. En un estudio posterior realizado en los tratados con pravastatina en el contexto del ensayo clínico PROVE IT-TIMI 22 los mismos autores no lograron reproducir los resultados obtenidos en el anterior estudio (Iakoubova y cols., 2008b).

- ***MMP3***

De Maat y cols. (1999) han investigado el efecto del polimorfismo 5A>6A en el promotor gen de la metaloproteasa de la matriz extracelular 3 (*MMP3*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con pravastatina y han encontrado que los portadores del alelo 6A (5A/6A o 6A/6A) se benefician más del tratamiento que los individuos con genotipo 5A/5A al presentar una mayor reducción del riesgo de eventos cardiovasculares.

- ***MTHFR***

Nieminen y cols. (2007) han investigado el efecto del polimorfismo rs1801133 (c.677C>T, p.222A>V) del gen de la metinil-tetrahidro folato reductasa (*MTHFR*)

sobre el descenso de los niveles séricos de homocisteína o la mejora de los índices de flujo coronario en 44 varones finlandeses voluntarios sanos (moderadamente hipercolesterolémicos) de mediana edad tratados con pravastatina 40 mg diarios durante 6 meses y no han encontrado entre los genotipos diferencias en ninguno de los dos aspectos de la respuesta pleiotrópica evaluados. Un estudio posterior ha investigado el efecto de este mismo polimorfismo sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con pravastatina y ha encontrado que los portadores del alelo T (CT o TT), a diferencia de los no portadores (CC), no se beneficiaban del tratamiento hipolipemiente al presentar una ausencia completa de reducción del riesgo de eventos cardiovasculares (Maitland-van der Zee y cols., 2008).

- **NOS3**

Kunnas y cols. (2002) han investigado el efecto del polimorfismo 4b>4a en el intrón 4 del gen de la óxido nítrico sintasa endotelial (*NOS3*) sobre la eficacia hipolipemiente y pleiotrópica en los pacientes tratados con pravastatina y han encontrado mayor flujo coronario inducido por adenosina en los portadores del alelo 4a respecto a los individuos con el genotipo 4b/4b, pero no hubo diferencias en la respuesta hipolipemiente. Un estudio posterior (Agema y cols., 2004b) no detectó diferencias entre los genotipos en la reducción del riesgo de eventos coronarios.

- **SERPINE1**

Roncal y cols. (2006) investigaron *ex vivo* el efecto del polimorfismo 5G>4G en el promotor del gen del inhibidor del activador del plasminógeno tisular tipo 1 o PAI-1 (*SERPINE1*) sobre la secreción de PAI-1 en respuesta a IL1 en células endoteliales humanas de la vena umbilical (HUVEC) tratadas con pravastatina. Las células HUVEC con genotipo 4G/4G presentaban una menor secreción de PAI-1 en respuesta a IL1 respecto a los genotipos 4G/5G o 5G/5G. Los niveles elevados de PAI-1 se han asociado a eventos cardiovasculares, por lo que, estos resultados sugieren que el genotipo 4G/4G asociado a niveles bajos de PAI-1 podría estar asociado a un menor riesgo de eventos cardiovasculares.

- **TLR4**

Boekholdt y cols. (2003) han investigado el efecto del polimorfismo rs4986790 (Ex3+636^a>G, p.299D>G) en el gen del receptor "toll-like" 4 (*TLR4*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con pravastatina y han encontrado que los portadores del alelo G (GG o AG) obtienen un mayor beneficio del tratamiento hipolipemiente al presentar una mayor reducción en el riesgo de eventos cardiovasculares que los no portadores.

1.8.4.- Fluvastatina

En los pacientes con hipercolesterolemia familiar (HF) se han investigado los efectos sobre la respuesta hipolipemiente al tratamiento con fluvastatina de los polimorfismos sólo en el gen del receptor de LDL (*LDLR*) (véase **Figura 1.19**).

- ***LDLR***

Los resultados de los estudios que han investigado la asociación de los polimorfismos en el gen *LDLR* con diferencias en la respuesta hipolipemiente en pacientes con HF tratados con fluvastatina son contradictorios con datos a favor (Leitersdorf y cols., 1993) y en contra (Brorholt-Petersen y cols., 2001).

En los pacientes con hipercolesterolemia primaria (HP) tratados con fluvastatina se han estudiado los polimorfismos en 6 genes ADME, 8 genes de dianas terapéuticas y 9 genes de redes fisiopatológicas.

Genes ADME (véase Figura 1.20)

Cuatro de los seis genes ADME investigados son de enzimas metabolizadoras de fármacos (*CYP3A5*, *CYP2C9*, *CYP2D6* y *PON1*) y los tres restantes son de los transportadores *ABCB1*, *ABCG2* y *SLCO1B1*.

- ***CYP3A5***

Los dos estudios que han investigado el alelo *3 del gen *CYP3A5* en paciente con HP tratados con fluvastatina no han detectado diferencias en la respuesta hipolipemiente (Kivisto y cols., 2004a; Zuccaro y cols., 2007). Tampoco parece que este alelo se asocie a diferencias en el riesgo de miotoxicidad inducida por fluvastatina (Zuccaro y cols., 2007).

- ***CYP2C9***

Varios estudios que han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen *CYP2C9* sobre los parámetros cinéticos, la respuesta hipolipemiente, la miotoxicidad y la reducción de eventos cardiovasculares con fluvastatina. En voluntarios sanos estos polimorfismos se asocian a un aumento en la exposición plasmática (Kirchheiner y cols., 2003), no obstante, estas diferencias no se asocian a diferencias en la respuesta hipolipemiente tanto en voluntarios sanos (Kirchheiner y cols., 2003) como en pacientes con HP (Zuccaro y cols., 2007). Tampoco se asocian a diferencias en el riesgo de miotoxicidad (Zuccaro y cols., 2007) o a diferencias en la reducción de eventos cardiovasculares (Singer y cols., 2007).

- ***CYP2D6***

Zuccaro y cols. (2007) han observado que en los pacientes con HP en tratamiento con fluvastatina los metabolizadores lentos *CYP2D6* (*1/*4 o *4/*4) presentan una

mayor eficacia hipolipemiente. No obstante, los individuos portadores de estos alelos presentaron la misma incidencia de miotoxicidad que los no portadores.

- **PON1**

Christidis y cols. (2007) han observado que en los pacientes con HP en tratamiento con fluvastatina el polimorfismo en el gen de la paraoxonasa 1 (*PON1*) modula la eficacia pleiotrópica evaluada mediante la respuesta de la (HDL-Lp-PLA2) fosfolipasa A2 asociada a las HDL (HDL-Lp-PLA2) con una mejor respuesta en presencia de los polimorfismos. Sin embargo, estas variaciones en la respuesta pleiotrópica genotipo-dependiente no se reflejan en unas diferencias significativas en la reducción de eventos cardiovasculares (Turban y cols., 2001).

- **ABCB1**

Keskitalo y cols. (2009b) han observado que en los voluntarios que reciben una dosis única de fluvastatina los polimorfismo en el gen *ABCB1* y sus correspondiente haplotipos no se asocian a diferencias en los parámetros cinéticos. Los resultados de los estudios que han investigado el efecto de estos polimorfismos sobre la eficacia hipolipemiente de la fluvastatina en pacientes con HP son contradictorios con datos a favor (Bercovich y cols., 2006) y en contra (Singer y cols., 2007) de la existencia de diferencias estadísticamente significativas. No existen diferencias entre los genotipos en la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares (Singer y cols., 2007).

- **ABCG2**

Keskitalo y cols. (2009c) han investigado el efecto del polimorfismo rs2231142 (c.421C>A, p.141Gln>Lys) en el gen del transportador *ABCG2* sobre la exposición de fluvastatina en voluntarios sanos que reciben una dosis única de 40 mg y han observado que los portadores homocigotos (AA) presentan un AUC_{0-∞} 97% y 72% mayor que en los individuos con genotipo CA y CC, respectivamente.

- **SLCO1B1**

Varios estudios han investigado el efecto del alelo *5 del gen del transportador *SLCO1B1* sobre los parámetros cinéticos, la eficacia hipolipemiente y la reducción de eventos cardiovasculares en los tratados con fluvastatina. Niemi y cols. (2006a) no han detectado en voluntarios sanos la presencia de diferencias cinéticas entre los portadores de este polimorfismos. Pasanen y cols. (2008b) tampoco detectaron diferencias en la reducción de la biosíntesis endógena de colesterol en las 12 horas siguiente a la administración de una dosis única a voluntarios sanos. En los pacientes con HP tratados con fluvastatina, tampoco hubo diferencias en la respuesta hipolipemiente ni en la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares entre los portadores de los distintos genotipos (Singer y cols., 2007).

Genes de las dianas terapéuticas (véase Figura 1.21)

Los 8 genes cuyos polimorfismos se han investigado en los pacientes con HP tratados con fluvastatina son el de la HMG-CoA reductasa (*HMGCR*), el del receptor de LDL (*LDLR*), los de las apolipoproteínas *APOB* y *APOE*, y el de la proteína transportadora de ésteres de colesterol (*CETP*), el de la enzima lipoproteínlipasa (*LPL*), y el del factor de transcripción de unión a elementos regulados por esterol 1 (*SREBF1*), el de la proteína transportadora de triglicéridos microsomales (*MTTP*), y el de la chaperona del factor de transcripción regulada por esterol (*SCAP*).

- ***HMGCR***

Los resultados de un estudio (Singer y cols., 2007) que ha investigado la asociación de los polimorfismos en el gen de la HMG-CoA reductasa (*HMGCR*) con la respuesta hipolipemiente y la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en pacientes con HP tratados con fluvastatina ha observado en ambos casos la ausencia de asociación estadísticamente significativa.

- ***LDLR***

Salazar y cols. (2000) han observado que en los pacientes con HP en tratamiento con fluvastatina los polimorfismos en el gen *LDLR* se asocian a una menor eficacia hipolipemiente con 5% menor reducción de los niveles de LDL y de colesterol total.

- ***APOB***

Guzman y cols. (2000) han observado que en los pacientes con HP en tratamiento con fluvastatina los polimorfismos en el gen *APOB* se asocian a una mayor eficacia hipolipemiente con 6% mayor reducción de los niveles de LDL.

- ***APOE***

Varios estudios han investigado el efecto de las variantes alélicas $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$ en el gen *APOE* sobre la eficacia hipolipemiente y el riesgo de miotoxicidad en los pacientes con HP tratados con fluvastatina. Los dos estudios que han investigado la asociación con la eficacia hipolipemiente han obtenido que los portadores del alelo $\epsilon 4$ presentan una menor eficacia hipolipemiente con una menor reducción en los niveles de LDL que los no portadores (Ballantyne y cols., 2000; Zuccaro y cols., 2007) y que los portadores del alelo $\epsilon 2$ presentan una mejor respuesta hipolipemiente que los portadores de los alelos $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$. En cambio, Zuccaro y cols. (2007) no han observado que estos alelos se asocien a diferencias significativas en el riesgo de miotoxicidad.

- ***CETP***

Los estudios que han investigado la asociación de los polimorfismos en el gen de la proteína transportadora de ésteres de colesterol (*CETP*) con diferencias en la

respuesta hipolipemiente en los paciente con HP tratados con fluvastatina han obtenido resultados contradictorios con datos a favor (Bercovich y cols., 2006) y en contra (Singer y cols., 2007) de la existencia de tal asociación. Singer y cols. (2007) no fueron capaces de demostrar diferencias en la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares entre los portadores de los distintos polimorfismos.

- **LPL**

Los estudios que han investigado en los pacientes con HP tratados con fluvastatina la asociación de los polimorfismos en el gen de la lipoproteínlipasa (*LPL*) con diferencias en la respuesta hipolipemiente no han podido demostrar diferencias significativas (Sing y cols., 1999; Singer y cols., 2007) al igual que en el caso de la reducción de eventos cardiovasculares (Singer y cols., 2007).

- **SREBF1**

Salek y cols. (2002) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen del factor de transcripción de unión a elementos regulados por esterol 1 (*SREBF1*) sobre la eficacia hipolipemiente y la respuesta angiográfica en los pacientes tratados con fluvastatina y observaron que los portadores de polimorfismos presentaron una mejor respuesta hipolipemiente pero no diferencias en la respuesta angiográfica.

- **SCAP**

Salek y cols. (2002) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen de la chaperona del factor de transcripción regulada por esterol (*SCAP*) sobre la eficacia hipolipemiente y la respuesta angiográfica en los pacientes tratados con fluvastatina pero en ambos casos no han encontrado diferencias entre los individuos con diferentes genotipos.

Genes de la red fisiopatológica de la aterosclerosis (véase Figura 1.22)

Entre los 9 genes de la red fisiopatológica de la arteriosclerosis cuyos polimorfismos han sido investigados en los pacientes con HP tratados con fluvastatina se encuentra el de la enzima convertidora de angiotensina (*ACE*), el de la molécula CD14 (*CD14*), el de la interleuquina 6 (*IL6*), el del receptor de la IL-6 (*IL6R*), el de la metaloproteasa de la matriz extracelular 3 (*MMP3*), el del receptor activador de la proliferación de los peroxisomas alfa (*PPARA*), delta (*PPARD*) y gama (*PPARG*), y por último, el del factor de necrosis tumoral alfa (*TNF*).

- **ACE**

Los estudios que han investigado el efecto del polimorfismo ins-del (D>I) en el gen la enzima convertidora de angiotensina (*ACE*) sobre la reducción de eventos cardiovasculares en los pacientes con HP tratados con fluvastatina ha encontrado

resultados contradictorios con datos a favor (Marian y cols., 2000) y en contra (Singer y cols., 2007) de la existencia de diferencias entre los individuos con los genotipos DD, DI o II. El único estudio que ha investigado el efecto de este polimorfismo sobre la respuesta hipolipemiente en los pacientes tratados con fluvastatina no ha encontrado diferencias entre los genotipos (Singer y cols., 2007).

- **CD14**

Elghannam y cols. (2000) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen *CD14* sobre la respuesta hipolipemiente y la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con fluvastatina pero en ambos casos no han encontrado diferencias entre los individuos con diferentes genotipos.

- **IL6**

Ninguno de los dos estudios que han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen de la IL-6 (*IL6*) sobre la respuesta hipolipemiente y la reducción de eventos cardiovasculares en los pacientes con HP tratados con fluvastatina ha encontrado diferencias entre los distintos genotipos (Elghannam y cols., 2000; Singer y cols., 2007). Sin embargo, Elghannam y cols. (2000) han observado que los portadores de estos polimorfismos presentan una mejor respuesta pleiotrópica a la fluvastatina consiguiendo mayor reducción de los nivel plasmáticos de lipoproteína a (Lp(a)) que los no portadores.

- **IL6R**

El único estudio que ha investigado el efecto de los polimorfismos en el gen del receptor de la IL-6 (*IL6R*) sobre la respuesta hipolipemiente y la reducción de eventos cardiovasculares en pacientes con HP tratados con fluvastatina no ha detectado diferencias significativas entre los portadores de los distintos genotipos (Singer y cols., 2007).

- **MMP3**

Singer y cols. (2007) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen de la metaloproteasa de la matriz extracelular 3 (*MMP3*) sobre la eficacia hipolipemiente y la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con fluvastatina pero no han encontrado diferencias entre los individuos con diferentes genotipos.

- **PPARA, PPARD y PPARG**

Chen y cols. (2004) han investigado el efecto de los polimorfismos en los genes del receptor activador de la proliferación de los peroxisomas alfa (*PPARA*), delta (*PPARD*) y gama (*PPARG*) sobre la eficacia hipolipemiente en los pacientes tratados con fluvastatina. Las diferencias entre los individuos con polimorfismos en el gen *PPARA* no alcanzaron la significación estadística. En cambio, el caso de los

portadores de polimorfismos en los genes *PPARD* y *PPARG* presentaron una peor respuesta hipolipemiente con menor reducción en los niveles de triglicéridos pero no en los niveles de LDL. No se detectaron diferencias significativas en los fenotipos angiográficos analizados para los polimorfismos de ninguno de los tres genes.

- ***TNF***

Elghannam y cols. (2000) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen del factor de necrosis tumoral alfa (*TNF*) sobre la eficacia hipolipemiente y la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes tratados con fluvastatina pero no han encontrado diferencias entre los individuos con diferentes genotipos.

1.8.5.- Atorvastatina

En los pacientes con hipercolesterolemia familiar (HF) se han investigado los efectos sobre la respuesta hipolipemiente al tratamiento con atorvastatina de varios polimorfismos en solo dos genes, uno el gen de la apolipoproteína E (*APOE*) del grupo de las dianas terapéuticas y el otro el de la paraoxonasa 1 (*PON1*) del grupo de los genes ADME (véase **Figura 1.19**).

- ***APOE***

El efecto de las variantes alélicas $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$ en el gen *APOE* sobre la eficacia hipolipemiente en los pacientes con HF tratados con atorvastatina han sido investigado por dos estudios con resultados contrarios. O'Neill y cols. (2001) (O'Neill y cols., 2001) han observado que los portadores del alelo $\epsilon 4$ presentan una menor eficacia hipolipemiente con una menor reducción en los niveles de LDL que los no portadores. En cambio, un estudio posterior no ha podido detectar tales diferencias (Christidis y cols., 2006).

- ***PON1***

Himbergen y cols. (2005) han observado que en los pacientes con HF los polimorfismos en el gen de la paraoxonasa 1 (*PON1*) se asociaban a un mayor aumento de HDL en respuesta al tratamiento con atorvastatina.

En los pacientes con hipercolesterolemia primaria (HP) tratados con atorvastatina o en voluntarios sanos se han investigado los polimorfismos en 7 genes del grupo ADME, 8 genes de dianas terapéuticas y 5 genes de la red fisiopatológica de la aterosclerosis.

Genes ADME (Figura 1.20)

Los 7 genes ADME cuyos polimorfismos han sido investigados en pacientes con HP o voluntarios sanos que han recibido atorvastatina son los de las enzimas

metabolizadores de fármacos *CYP3A4*, *CYP3A5*, paraoxonasa 1 (*PON1*) y UDP-glucuronil transferasa 2B7 (*UGT2B7*), y los de los transportadores *ABCB1*, *ABCG2* y *SLCO1B1*.

- ***CYP3A4***

Kajinami y cols. (2004a) han investigado el efecto de la variante alélica *CYP3A4**1B (-392A>G, rs2740574) en el gen *CYP3A4* sobre la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con atorvastatina y han observado que el alelo *1B se asocia a una peor respuesta hipolipemiente con menor reducción de los niveles de LDL.

- ***CYP3A5***

Kivisto y cols. (2004a) han investigado el efecto de la variante alélica *CYP3A5**3 (rs776746 A>G) en el gen *CYP3A5* sobre la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con atorvastatina y han observado que el alelo *3 se asocia a una mejor respuesta hipolipemiente con una reducción 14% mayor en los niveles de colesterol total y LDL. Por otro lado, Hermann y cols. (2006) han investigado el efecto de la misma variante alélica sobre el riesgo de presentar miotoxicidad en los pacientes con HP tratados con atorvastatina y observaron que el alelo *3 no se asocia a un mayor riesgo de miotoxicidad. No obstante, observaron que los pacientes que habían experimentado miotoxicidad presentaban unos niveles plasmáticos de atorvastatina más altos que los pacientes libres de este acontecimiento adverso.

- ***PON1***

Sardo y cols. (2005) han observado que en los pacientes con HP los polimorfismos en el gen de la paraoxonasa 1 (*PON1*) no se asocian a diferencias en la respuesta pleiotrópica al tratamiento con atorvastatina, evaluada como resistencia a la oxidación de LDL.

- ***ABCB1***

Tres han sido los estudios que han investigado efecto de los polimorfismos en el gen *ABCB1* y los haplotipos que constituyen sobre la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con atorvastatina. Sin embargo, los resultados de los tres ofrecen resultados contradictorios con datos a favor (Kajinami y cols., 2004b; Thompson y cols., 2005) y en contra (Mega y cols., 2009) de la asociación. Por otro lado, Hermann y cols. (2006) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen *ABCB1* sobre el riesgo de presentar miotoxicidad en los pacientes con HP tratados con atorvastatina y observaron que no se asocia a un mayor riesgo de miotoxicidad. No obstante, observaron que los pacientes que

habían experimentado miotoxicidad presentaban unos niveles plasmáticos de atorvastatina más altos que los pacientes libres de este acontecimiento adverso.

- **ABCG2**

Keskitalo y cols. (2009) han investigado el efecto del polimorfismo c.421C>A en el gen *ABCG2* sobre parámetros cinéticos en voluntarios sanos que recibieron dosis única de atorvastatina observaron que los sujetos con genotipo AA presentaron un AUC_{0-∞} de atorvastatina un 72% y un 100% mayor que los portadores heterocigotos (CA) o los con genotipo CC, respectivamente. No hubo diferencias significativas entre los tres genotipos respecto a los valores de C_{max}.

- **SLCO1B1**

Pasanen y cols. (2007) han investigado el efecto del polimorfismo c.521T>C (rs4149056, alelo *SLCO1B1**5) en el gen *SLCO1B1* sobre parámetros cinéticos en voluntarios sanos que recibieron dosis única de atorvastatina observaron que los sujetos con genotipo CC (*5/*5) presentaron un AUC_{0-48h} de atorvastatina un 61% y un 144% mayor que los portadores heterocigotos (TC) o los con genotipo TT, respectivamente. Sin embargo, esta influencia sobre la exposición no tiene su reflejo en la eficacia hipolipemiente en voluntarios sanos. Pasanen y cols. (2008b) no lograron detectar diferencias en la reducción de la biosíntesis endógena de colesterol en las 12 horas post dosis única de atorvastatina en voluntarios sanos, aunque sí diferencias en la velocidad de la biosíntesis endógena basal de colesterol (40% menor en los sujetos homocigotos para el alelo *5). Por otro lado, Hermann y cols. (2006) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen *SLCO1B1* sobre el riesgo de presentar miotoxicidad en los pacientes con HP tratados con atorvastatina y observaron que no se asocia a un mayor riesgo de miotoxicidad. No obstante, observaron que los pacientes que habían experimentado miotoxicidad presentaban unos niveles plasmáticos de atorvastatina más altos que los pacientes libres de este acontecimiento adverso.

- **UGT2B7**

Riedmaier y cols. (2010) han investigado el efecto del alelo *UGT2B7**2 determinado por dos polimorfismos (rs3821242 T>C, p.11W>R y rs6431625 T>C, p.47V>A) en el gen de la UDP-glucuronil transferasa 2B7 (*UGT2B7*) sobre los parámetros cinéticos en voluntarios sanos que recibieron una dosis única de 20 mg de atorvastatina y observaron que los portadores del alelo *2 presentaban una mayor tasa de lactonización de atorvastatina y de su metabolito 2-hidroxi atorvastatina (2-OH-ATO). En comparación con los sujetos *1/*1, el cociente lactona/hidroxiácido de atorvastatina fue un 42% y un 37% mayor en los sujetos portadores homocigotos (*2/*2) o heterocigotos (*1/*2), respectivamente. Asimismo, en comparación con los sujetos *1/*1, el cociente lactona/hidroxiácido

de 2-OH-ATO fue un 50% y un 35% mayor en los sujetos portadores homocigotos (*2/*2) o heterocigotos (*1/*2), respectivamente.

Genes de las dianas terapéuticas (véase Figura 1.21)

Los 8 genes cuyos polimorfismos se han investigado en los pacientes con HP tratados con atorvastatina son el de la HMG-CoA reductasa (*HMGCR*), los de las apolipoproteínas *APOA1* y *APOE*, los de las proteínas transportadoras *ABCG5*, *ABCG8* y el de la proteína transportadora de ésteres de colesterol (*CETP*), el de la enzima *CYP7A1*, y por último, el de la proproteína-convertasa subtilisina/quexina tipo 9 (*PCSK9*).

• ***HMGCR***

Thompson cols. (2009) han investigado la asociación de los polimorfismos en el gen de la HMG-Co A reductasa (*HMGCR*) con la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con atorvastatina y han observado que tres de ellos se asocian a menor reducción en los niveles de LDL.

• ***APOA1***

Kajinami y cols. (2005a) han investigado la asociación del polimorfismo +83(+>-) en el gen de la apolipoproteína A1 (*APOA1*) con la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con atorvastatina y han observado que la asociación existe pero que es sexo-dependiente. En los varones los portadores homocigotos ++ presentaron un mayor aumento de los niveles de HDL que los no portadores, en cambio, entre las mujeres no hubo diferencias significativas.

• ***APOE***

El efecto de las variantes alélicas $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$ en el gen *APOE* sobre la eficacia hipolipemiente han sido investigado intensamente en los pacientes con HP tratados con atorvastatina. En cinco (Pedro-Botet y cols., 2001; Garcia-Otin y cols., 2002; Thompson y cols., 2005; Mega y cols., 2009; Thompson y cols., 2009) de los seis estudios publicados se demuestra que los portadores del alelo $\epsilon 4$ presentan una menor eficacia hipolipemiente con una reducción en los niveles de LDL entre un 7% y un 10% inferior que los no portadores. Sólo en un estudio no se han podido detectar diferencias estadísticamente significativas en los tratados con atorvastatina pero sí en la respuesta hipolipemiente en los tratados con fenofibrato (Christidis y cols., 2006).

• ***ABCG5 y ABCG8***

Kajinami y cols. (2004c) han investigado la asociación de los polimorfismos en los genes de los transportadores *ABCG5* y *ABCG8* con la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con atorvastatina y han observado que los portadores del

alelo C del polimorfismo Ex1-9G>C (p.19D>H, rs11887534) en el gen *ABCG8* poseen una mejor respuesta hipolipemiente al presentar una reducción de los niveles de LDL 3.5% mayor que los no portadores. Ninguno de los polimorfismos en el gen *ABCG5* investigados se asoció con la respuesta hipolipemiente.

- **CETP**

Los dos estudios que han investigado el efecto del polimorfismo en el gen *CETP* sobre la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con atorvastatina han observado que los portadores del polimorfismo TaqIB (B1>B2, rs708272) y varios haplotipos presentaban una mejor respuesta hipolipemiente con un mayor aumento de los niveles de HDL y una mayor reducción de los triglicéridos que los no portadores (van Venrooij y cols., 2003; Winkelmann y cols., 2003).

- **CYP7A1**

Kajinami y cols. (2004d) han investigado la asociación del polimorfismo -204A>C en el promotor del gen *CYP7A1* con la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con atorvastatina y han observado que los portadores del alelo C poseen una peor respuesta hipolipemiente al presentar una reducción de los niveles de LDL 4.2% menor que los no portadores. Dado que los portadores del alelo C del polimorfismo Ex1-9G>C (p.19D>H, rs11887534) en el gen *ABCG8* poseen también una mejor respuesta hipolipemiente (la reducción de los niveles de LDL es 3.5% mayor que los no portadores) (Kajinami y cols., 2004c) decidieron analizar ambos polimorfismos conjuntamente. En análisis conjunto demostró la existencia de una interacción epistática negativa; el efecto polimorfismo -204A>C en el promotor del gen *CYP7A1* anulaba el efecto beneficioso del polimorfismo Ex1-9G>C (p.19D>H, rs11887534). De esta forma los portadores del polimorfismo Ex1-9G>C en el gen *ABCG8* y no del polimorfismo -204A>C en el gen *CYP7A1* presentaban una reducción de los niveles de LDL 8.5% mayor que los portadores del polimorfismo -204A>C en el gen *CYP7A1* y no del polimorfismo Ex1-9G>C en el gen *ABCG8*. Un estudio posterior demostró también la existencia de una interacción epistática positiva entre el polimorfismo en el gen *CYP7A1* (-204A>C) y el polimorfismo en el gen *APOE*, ambos asociados con peor respuesta hipolipemiente a la atorvastatina (Kajinami y cols., 2005b). La reducción de los niveles de LDL en los portadores del alelo C del polimorfismo -204A>C y del alelo ε4 fue menor que la suma de sus efectos individuales.

- **PCSK9**

Thompson cols. (2009) han investigado la asociación del polimorfismo rs11591147 G>T en el gen de la proproteína-conversata subtilisina/quexina tipo 9 (*PCSK9*) con la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con atorvastatina y han

observado que los portadores del alelo T presentan una reducción 4% mayor en los niveles de LDL que los no portadores.

Genes de la red fisiopatológica de la aterosclerosis (véase Figura 1.22)

Entre los 5 genes de la red fisiopatológica de la arteriosclerosis cuyos polimorfismos han sido investigados en los pacientes con HP tratados con atorvastatina se encuentran los del receptor nuclear de estrógenos tipo 1 (*ESR1*), el de la interleuquina-6 (*IL6*), el del miembro 6 de la familia de quinesina (*KIF6*), el de la óxido nítrico sintasa endotelial (*NOS3*) y el del receptor de las LDL oxidadas parecido al de la leptina tipo 1 (*OLR1*).

• *ESR1*

Kajinami y cols. (2005a) han investigado la asociación del haplotipo 2 (PvuII-XbaI+) en el gen del receptor nuclear de estrógenos tipo 1 (*ESR1*) con la respuesta hipolipemiente en pacientes con HP tratados con atorvastatina y han observado que la asociación existe pero que es sexo-dependiente. En las mujeres los portadores del haplotipo 2 presentaron un aumento de los niveles de HDL 6% mayor que en los no portadores, en cambio, entre los varones no hubo diferencias significativas. Otro hallazgo interesante fue la descripción de la existencia de una interacción epistática sexo-dependiente con el polimorfismo +83(+>-) en el gen *APOA1*. En las mujeres existía una interacción epistática positiva, es decir, portadoras de los polimorfismos en ambos genes presentaban un mayor aumento en los niveles de HDL. En cambio, en los varones los portadores homocigotos del haplotipo 2 del gen *ESR1* que eran homocigotos para el alelo silvestre del polimorfismo en el gen *APOA1* se beneficiaban más que el resto presentando un aumento en los niveles de HDL 3.3% mayor.

• *IL6*

Potaczek y cols. (2006) han investigado el efecto de los polimorfismos en el promotor del gen de la interleuquina-6 (*IL6*) sobre la eficacia hipolipemiente y la respuesta pleiotrópica en los pacientes con HP tratados con atorvastatina y en ambos casos no han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los distintos genotipos.

• *KIF6*

Iakoubova y cols. (2008b) han investigado el efecto del polimorfismo rs20455 (c.2155T>C, p.719W>R) del gen del miembro 6 de la familia de quinesina (*KIF6*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los hombres tratados con 80 mg diarios de atorvastatina como profilaxis secundaria en el contexto del ensayo clínico PROVE IT-TIMI 22, y han encontrado que los portadores del genotipo CC se benefician más del tratamiento hipolipemiente al presentar una reducción en

el riesgo de eventos cardiovasculares 9% mayor que los portadores de los genotipos TC o TT.

- **NOS3**

Nagassaki y cols. (2006) han investigado el efecto del polimorfismo -786T>C en el promotor del gen de la óxido nítrico sintasa endotelial (*NOS3*) sobre la eficacia hipolipemiente y sus efecto pleiotrópicos en voluntarios sanos tratados con 10 mg diarios de atorvastatina durante 14 días. No hubo diferencias en la eficacia hipolipemiente pero sí en la respuesta pleiotrópica. Los sujetos con genotipo TT presentaron un incremento significativo en los niveles de óxido nítrico en sangre y una reducción de los índices de estrés oxidativo que no se observó en los individuos con genotipo CC. Estos resultados fueron confirmados por un estudio posterior (Souza-Costa y cols., 2007). Sin embargo, estas diferencias en la respuesta pleiotrópica obtenidos en voluntarios sanos no se han visto reflejados en diferencias en la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en los pacientes en tratamiento con atorvastatina (Puccetti y cols., 2008).

- **OLR1**

Puccetti y cols. (2005) han investigado el polimorfismo c.*190T>C o Ex6+332T>C (rs1050283) en la región 3'-UTR del receptor de las LDL oxidadas parecido al de la leptina tipo 1 (*OLR1*) en pacientes tratados 20 mg diarios de atorvastatina y han observado una reducción en la hiperreactividad plaquetaria precoz y de mayor magnitud en los portadores del alelo C respecto a los no portadores. No hubo diferencias en la eficacia hipolipemiente entre los genotipos. Dos estudios posteriores (Puccetti y cols., 2007 y 2008) llevados a cabo por los mismos autores, han demostrado la existencia de diferencias en la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en función del genotipo del polimorfismo Ex6+332T>C (rs1050283). Los portadores del alelo C se beneficiaban más del tratamiento con atorvastatina presentando una mayor reducción en el riesgo de eventos cardiovasculares que los portadores del genotipo TT.

1.8.6.- Cerivastatina

No se han publicado estudios farmacogenéticos con cerivastatina ni con pacientes ni con voluntarios sanos. Sólo existe publicado el caso de una paciente de 74 años que desarrolló rhabdomiolisis a los 22 días del inicio del tratamiento con cerivastatina. Dado que la paciente había sido tratada previamente con simvastatina y pravastatina durante varios años sin haber presentado miotoxicidad Ishikawa y cols. (2004) decidieron secuenciar los genes de las enzimas *CYP2C8* y *CYP3A4*, y del transportador *SLCO1B1* en busca de polimorfismos que explicaran la rhabdomiolisis asociada al uso de cerivastatina. La paciente resultó ser portadora del

polimorfismo c.475delA (*CYP2C8*5a*) que provoca la terminación prematura de la secuencia proteica en el codón 177 de la *CYP2C8* con la resultante pérdida del 64% de la actividad de la enzima. No se detectaron polimorfismos en el resto de genes investigados.

1.8.7.- Pitavastatina

Los estudios farmacogenéticos que se han realizado con pitavastatina se han realizado sólo en voluntarios sanos investigando el polimorfismo en dos genes ADME, los transportadores *ABCG2* y *SLCO1B1* (véase **Figura 1.20**).

- ***ABCG2***

Ieiri y cols. (2007) han investigado el efecto del polimorfismo c.421C>A en el gen *ABCG2* sobre los parámetros cinéticos de pitavastatina en voluntarios sanos y han observado que no existen diferencias en el AUC_{0-24h} o la C_{max} entre los distintos genotipos.

- ***SLCO1B1***

Tres han sido los estudios que han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen *SLCO1B1* sobre los parámetros cinéticos de pitavastatina en voluntarios sanos. En todos ellos los sujetos con genotipo CC del polimorfismo c.521T>C (p.174V>A, rs4149056, *SLCO1B1*5*) tenían un $AUC_{0-\infty}$ de pitavastatina entre un 162% y un 191% mayor que en los individuos con genotipo TT (Chung y cols., 2005; Ieiri y cols., 2007; Deng y cols., 2008).

1.8.8.- Rosuvastatina

Se han realizado estudios farmacogenéticos con rosuvastatina sólo en voluntarios sanos investigando los polimorfismos en tres genes ADME, los transportadores *ABCB1*, *ABCG2* y *SLCO1B1* (véase **Figura 1.20**).

- ***ABCB1***

Keskitalo y cols. (2009b) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen *ABCB1*, y los haplotipos que constituyen, sobre los parámetros cinéticos de rosuvastatina en voluntarios sanos y han observado que no existen diferencias significativas entre los distintos gen o haplotipos.

- ***ABCG2***

Dos han sido los estudios que han investigado efecto del polimorfismo c.421C>A en el gen *ABCG2* sobre los parámetros cinéticos de rosuvastatina en voluntarios sanos que recibieron dosis única de 20 mg. En el primero de ellos, Zhang y cols. (2006) (Zhang y cols., 2006) observaron que los sujetos portadores del alelo A (CA o AA) tenían un $AUC_{0-\infty}$ de rosuvastatina un 78% mayor que los no portadores (CC). Los

valores de C_{\max} de rosuvastatina en los portadores del alelo A (CA o AA) fueron un 94% más altos que en los no portadores. En el segundo, Keskitalo y cols. (2009a) han obtenido unos resultados similares. Los sujetos con genotipo AA tenían un $AUC_{0-\infty}$ de rosuvastatina un 100% mayor que los portadores heterocigotos (CA) y un 144% mayor que los portadores del genotipo CC. Los valores de C_{\max} seguían el mismo patrón. La C_{\max} de los sujetos con genotipo AA fue un 108% y un 131% mayor que la de los portadores heterocigotos o los homocigotos CC, respectivamente.

- ***SLCO1B1***

Varios han sido los estudios que han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen *SLCO1B1* sobre los parámetros cinéticos de rosuvastatina en voluntarios sanos. En todos ellos los sujetos con genotipo CC del polimorfismo c.521T>C (p.174V>A, rs4149056, *SLCO1B1**5) presentaban un $AUC_{0-\infty}$ de rosuvastatina entre un 65% y un 100% mayor que en los individuos con genotipo TT (Lee y cols., 2005b; Pasanen y cols., 2007; Fan y cols., 2008; Choi y cols., 2008). No obstante, parece que aunque este polimorfismo se asocie a diferencias en la exposición a rosuvastatina no parece que estas diferencias cinéticas tengan una repercusión significativa en la eficacia hipolipemiente, al menos en voluntarios sanos. Pasanen y cols. (2008b) no han detectado diferencias significativas en la reducción de la biosíntesis endógena de colesterol en las 12 horas posteriores a una dosis única de 10 mg de rosuvastatina en voluntarios sanos.

1.8.9.- Varias estatinas

En este apartado describimos los estudios farmacogenéticos publicados que analizan el conjunto de las estatinas como grupo sin realizar análisis estratificados por cada una de ellas.

En los pacientes con hipercolesterolemia familiar (HF) se han investigado los efectos sobre la respuesta hipolipemiente y la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares al tratamiento con estatinas como grupo sin analizar cada fármaco por separado de varios polimorfismos en los genes relacionados con dianas terapéuticas *APOE* y *CETP* (véase **Figura 1.19**).

- ***APOE***

Karayan y cols. (1994) han investigado el efecto de las variantes alélicas $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$ en el gen *APOE* sobre la eficacia hipolipemiente en 125 pacientes con HF tratados con distintas estatinas (60% con lovastatina, 37% con simvastatina y 4% con pravastatina) y no han detectado diferencias en la respuesta hipolipemiente entre los portadores de los distintos alelos.

- **CETP**

Mohrschladt y cols. (2005) han investigado el efecto del polimorfismo TaqIB (B1>B2, rs708272) en el gen *CETP* sobre la eficacia hipolipemiente y la reducción de eventos cardiovasculares en 300 pacientes con HF tratados con distintas estatinas (60% con simvastatina, 20% con pravastatina y otros 20% con atorvastatina) con una mediana de seguimiento de 8.5 años pero no han detectado diferencias significativas entre los genotipos en la reducción de los niveles de colesterol total, LDL o el aumento de los niveles de HDL. Sin embargo, observaron que los portadores del genotipo B2/B2 se beneficiaban menos del tratamiento con estatinas al presentar una menor reducción del riesgo de eventos cardiovasculares que los pacientes con genotipo B1/B2 o B1/B1.

En los pacientes con hipercolesterolemia primaria (HP) tratados con varias estatinas se han investigado 6 gen ADME, 6 genes de dianas terapéuticas y 15 de redes fisiopatológicas.

Genes ADME (véase Figura 1.20)

Se han investigado los polimorfismos en 4 genes de enzimas metabolizadoras (*CYP3A4*, *CYP2C8*, *CYP2C9* y *CYP2D6*), un transportador de fármacos (*SLCO1B1*) y un gen de una de las subunidades de las proteínas G (*GNB3*).

- ***CYP3A4*, *CYP2C8*, *CYP2C9*, *CYP2D6* y *SLCO1B1***

Voora y cols. (2009) han investigado la asociación de los polimorfismos en los genes de las enzimas metabolizadoras de fármacos *CYP3A4*, *CYP2C8*, *CYP2C9* y *CYP2D6*, y el gen del transportador *SLCO1B1* con el riesgo de desarrollar miotoxicidad (definida como una variable compuesta de discontinuación por cualquier evento adverso, mialgia, o aumento de la CPK 3 veces por encima del límite superior de la normalidad) en 509 pacientes con HP tratados con diferentes estatinas (36% con simvastatina, 33% con atorvastatina y 31% con pravastatina). Ninguno de los polimorfismos investigados en los genes *CYP3A4*, *CYP2C8*, *CYP2C9* y *CYP2D6* se asoció de forma significativo con el riesgo de miotoxicidad. El único factor de riesgo genético de miotoxicidad fue el polimorfismo c.521T>C (p.174V>A, rs4149056, *SLCO1B1**5) con un "odds ratio" (OR) de 1.7 (IC95%: 1.04-2.8). El aumento de la incidencia de miotoxicidad en los portadores heterocigotos (*1/*5) respecto a los *1/*1 fue de un 8% (27% vs 19%, respectivamente) y del 31% en los portadores homocigotos (*5/*5) (50% vs 19%, respectivamente). El principal factor de riesgo no genético fue el sexo femenino (OR=2.2, IC95%: 1.4-3.6).

Tachibana-Iimori y cols. (2004) investigaron el impacto del polimorfismo *SLCO1B1**5 sobre la reducción del colesterol total en 66 japoneses hipercolesterolémicos tratados con varias estatinas y observaron que el alelo *5 se asociaba a una menor reducción de los niveles de colesterol total.

Nordin y cols. (1997) han analizado el efecto del polimorfismo en el gen *CYP2D6* sobre la eficacia hipolipemiente en una población de pacientes tratados con diferentes estatinas y han observado que los portadores de alelos defectivos, es decir, metabolizadores lentos, presentaban una eficacia hipolipemiente mayor que los no portadores.

- ***GNB3***

Recientemente se ha objetivado que los portadores del alelo 825T (CT o TT) tratados con antihipertensivos y que además recibían estatinas como profilaxis secundaria de la cardiopatía isquémica se benefician más del tratamiento hipolipemiente. La reducción absoluta del riesgo de sufrir un segundo infarto de miocardio en los portadores del alelo 825T (CT o TT) tratados con estatinas fue un 21% mayor que en los no portadores (825CC) (Peters y cols., 2008). No se ha investigado el efecto de este polimorfismo sobre la respuesta hipolipemiente a las estatinas.

Genes de las Dianas terapéuticas (véase Figura 1.21)

Se han investigado los polimorfismos en los siguientes 5 genes: el de la enzima HMG-CoA reductasa (*HMGCR*), los genes de las lipoproteínas APOA5 y APOE, el del transportador ABCA1, el de la lipoproteínlipasa (*LPL*) y el de la proproteín-convertasa subtilisina/quexina tipo 9 (*PCSK9*).

- ***HMGCR***

Ruaño y cols. (2003) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen de la HMG-CoA reductasa (*HMGCR*) sobre la eficacia hipolipemiente en pacientes con HP tratados con diferentes estatinas y han observado que ninguno de los polimorfismos estudiados se asocia a diferencias significativas.

- ***APOA5***

Hubacek y cols. (2009) han investigado el efecto del polimorfismo -1131T>C en el promotor del gen de la apolipoproteína A5 (*APOA5*) sobre la eficacia hipolipemiente en pacientes tratados con diferentes estatinas (el 46.3% con simvastatina, el 40.5% con atorvastatina y el 13.2% con lovastatina) y han observado que los portadores del alelo C (CT+CC) se benefician menos del tratamiento hipolipemiente al tienen una reducción de los niveles de LDL a los 3 meses 6% menor que los homocigotos TT.

- **APOE**

Aunque en un estudio (Voora y cols., 2008) en pacientes tratados con diferentes estatinas (el 36% con simvastatina, el 33% con atorvastatina, el 31% con pravastatina) se observó que los portadores de los alelos ε3 o ε4 del gen APOE presentan peor respuesta hipolipemiente un metanálisis reciente de 24 estudios (Zintzaras y cols., 2009) concluye que no existen diferencias en la respuesta hipolipemiente a las estatinas entre los pacientes portadores de los alelos ε2, ε3 o ε4. Tampoco se han detectado diferencias en la reducción de los eventos cardiovasculares (Maitland-van der Zee y cols., 2002). Sin embargo, en un estudio se observó que los pacientes con genotipo ε4/ε4 presentaban una mayor tasa de discontinuación del tratamiento por toxicidad que el resto (Maitland-van der Zee y cols., 2003).

- **ABCA1**

Voora y cols. (2008) han investigado el efecto del polimorfismo rs12003906 G>C en el gen del transportador *ABCA1* sobre la eficacia hipolipemiente en pacientes tratados con diferentes estatinas (el 36% con simvastatina, el 33% con atorvastatina, el 31% con pravastatina) y han observado que los portadores del alelo C (GC o CC) presentaron una peor respuesta hipolipemiente con una reducción de los niveles de LDL a las 8 semanas de tratamiento 12% menor que los no portadores.

- **LPL**

Javorsky y cols. (2007) han investigado el efecto del polimorfismo IVS8+483T>G (rs320) en el gen de la lipoproteínlipasa (*LPL*) sobre la eficacia hipolipemiente en pacientes tratados con diferentes estatinas (el 74% con simvastatina, el 8% con atorvastatina, el 4% con rosuvastatina y el resto con lovastatina o pravastatina) y han observado que los portadores del alelo G (TG o GG) presentaron una mejor respuesta hipolipemiente con un mayor aumento de los niveles de HLD que los no portadores.

- **PCSK9**

Chen y cols. (2005b) han investigado el efecto de los polimorfismos en el gen de la proproteín-convertasa subtilisina/quexina tipo 9 (*PCSK9*) sobre la eficacia hipolipemiente y la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en pacientes tratados con diferentes estatinas y han observado que no existen diferencias significativas entre los genotipos de los polimorfismos investigados en ninguno de los aspectos evaluados.

Genes de la Red fisiopatológica de la aterosclerosis (véase Figura 1.22)

Se han investigado los polimorfismos en los siguientes 15 genes: el de la enzima convertidora de angiotensina (*ACE*), el de la adenosina monofosfato desaminasa 1 (*AMPD1*), el de la para-hidroxibenzoato-poliprenil transferasa (*COQ2*), el de la carnitina palmitoil transferasa 2 (*CPT2*), los de los receptores de serotonina 1D (*HTR1D*), 2A (*HTR2A*), 2C (*HTR2C*), 3A (*HTR3A*), *HTR3B*), 5A (*HTR5A*), 6 (*HTR6*), y 7 (*HTR7*), el de la glicoproteína plaquetaria IIIa (*IGB3*), el de la miofosforilasa (*PYGM*) y el del neurotransportador de serotonina (*SLC6A4*).

- **ACE**

Maitland-van der Zee y cols. (2004) han investigado el efecto del polimorfismo ins-del (D>I) en el gen de la enzima convertidora de angiotensina (*ACE*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares y han observado que los hombres con genotipo DD no se benefician del tratamiento con estatinas al presentar poca o ninguna reducción del riesgo de eventos cardiovasculares. Los datos además sugieren que genotipar para el polimorfismo ins-del (D>I) en el gen *ACE* antes de iniciar tratamiento con estatinas es coste-eficaz en hombres.

- **AMPD1, CPT2, PYGM, SLC6A4**

Vladutiu y cols. (2006) han investigado la asociación de los polimorfismos en genes relacionados con miopatías no inducidas por estatinas, como el de la adenosina monofosfato desaminasa 1 (*AMPD1*), el de la carnitina palmitoil transferasa 2 (*CPT2*), el de la miofosforilasa (*PYGM*) o el del neurotransportador de serotonina (*SLC6A4*), con el riesgo de miotoxicidad inducida por estatinas. Los polimorfismos en los genes *AMPD1*, *CPT2* y *PYGM* se asociaban también a un mayor riesgo de miotoxicidad por estatinas al ser más frecuentes en los pacientes que habían experimentado miotoxicidad que en voluntarios sanos o pacientes tratados con estatinas sin desarrollar miotoxicidad. En cambio, los polimorfismos en el gen *SLC6A4* no se asociaron a mayor riesgo de miotoxicidad.

- **COQ2**

Oh y cols. (2007) han investigado la asociación del polimorfismo en el gen de la para-hidroxibenzoato-poliprenil transferasa (*COQ2*), la segunda enzima en la vía de biosíntesis de la ubiquinona (CoQ₁₀) en una población de pacientes tratados con diferentes estatinas (el 30% con atorvastatina, el 30% con rosuvastatina y el 40% restante con otras estatinas) y han observado que los portadores de estos polimorfismos presentan una mayor riesgo de desarrollar miotoxicidad.

- **HTR1D, HTR2A, HTR2C, HTR3A, HTR3B, HTR5A, HTR6 y HTR7**

Ruaño y cols. (2007) han investigado la asociación de los polimorfismos en los genes de varios receptores de serotonina (*HTR1D*, *HTR2A*, *HTR2C*, *HTR3A*, *HTR3B*,

HTR5A, *HTR6* y *HTR7*) con el riesgo de miotoxicidad por estatinas y han observado que sólo los polimorfismos en los genes *HTR3B* y *HTR7* se presentan con mayor frecuencia en los pacientes con mialgia (dolor muscular sin aumento de los niveles de CPK) que la en la población general, debido probablemente a diferencias en la nocicepción.

- ***IGB3***

Walter y cols. (2001) han investigado el efecto del alelo PI(A2) en el gen de la glicoproteína plaquetaria IIIa (*IGB3*) sobre la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares en pacientes tratados con estatinas y han observado que los portadores de este alelo se benefician más del tratamiento que los no portadores al presentar una reducción mayor en el riesgo de reestenosis del *stent*, infarto de miocardio o muerte de causa cardíaca en los 6 meses posteriores al inicio del tratamiento.

1.9.- Epístasis

Los seres vivos en general y el hombre en particular son por definición sistemas biológicos complejos organizados en complicadas redes de interacción. Actualmente se acepta que la complejidad de un sistema se debe a las interacciones entre sus componentes y que éstas serían un reflejo del grado de complejidad del sistema (Wu y cols., 2009). A más interacciones entre los componentes, mayor es la complejidad del sistema.

Los estudios genéticos han demostrado la existencia de una relación lineal entre genotipo y fenotipo en el caso de los caracteres mendelianos pero una relación no lineal en el caso de los caracteres complejos o poligénicos. Al menos parte de la complejidad de esta relación no lineal podría ser atribuida a la interacción entre genes y/o a la interacción entre genes y factores ambientales (Moore, 2005).

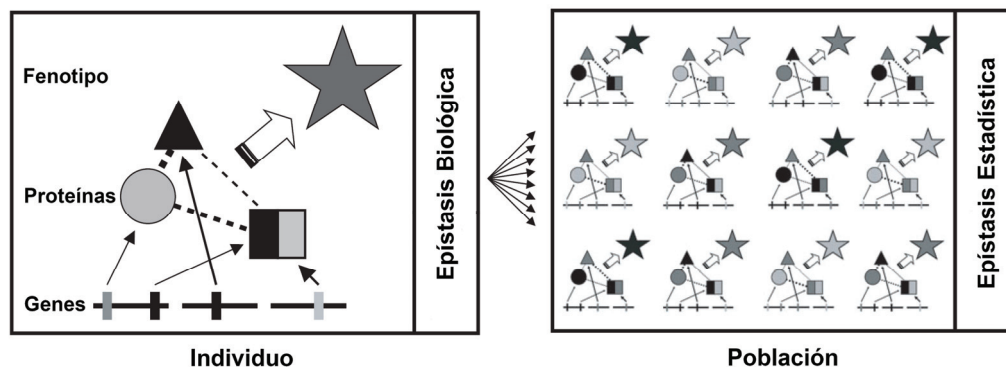


Figura 1.23. Epístasis biológica y estadística.

La epístasis biológica ocurre a nivel del individuo y representa la influencia de las interacciones entre los polimorfismos genéticos en el mismo o en distintos genes (representados por barras verticales) sobre el fenotipo (estrella) a través de su efecto sobre las proteínas que codifican y que interactúan físicamente entre sí en la red modular que determina el fenotipo. La epístasis estadística se detecta a nivel de la población explicando la variabilidad fenotípica. La presencia de epístasis biológica implica la existencia de epístasis estadística pero no al revés, ya que la no detección de epístasis a nivel poblacional no necesariamente indica la ausencia de epístasis biológica. Puede ocurrir que las variantes genéticas o proteicas sean idénticas en todos y cada uno de los individuos que componen la muestra estudiada no representativa de la población diana. En estas circunstancias no detectaríamos epístasis estadística, aun en el caso de que hubiera epístasis biológica a nivel individual. Hay que subrayar que con las técnicas estadísticas utilizadas actualmente no permiten determinar en qué circunstancias pueden darse falsos positivos de epístasis estadística sin que necesariamente exista epístasis biológica (Modificada de Moore, 2005).

La idea de la interacción entre los alelos de dos o más genes entendida como la modificación de la expresión fenotípica de un gen por parte de otro u otros genes no es nueva. Hace 100 años William Bateson acuñó el término de epístasis (el

griego *epistantai*, detener, verificar) para referirse a las distorsiones en los cocientes de segregación mendelianos debido a que el efecto sobre el fenotipo de un gen enmascaraba el efecto del otro (Bateson, 1909). Él observó que en algunos cruces dihíbridos no aparecían todas las clases fenotípicas esperadas según las leyes de Mendel y que de ciertas combinaciones surgían fenotipos nuevos. Nueve años más tarde, Sir Ronald Fisher utilizó el término de epistasia para describir la desviación estadística de la aditividad en el efecto fenotípico conjunto resultante de la combinación de los efectos individuales de dos genes en un modelo lineal (Fisher, 1918). Desafortunadamente, los genetistas enseguida empezaron a utilizar el término epístasis para referirse también a la epistasia de Fisher. Desde entonces la utilización del término epístasis se ha extendido para referirse a cualquier interacción compleja entre genes (Phillips, 2008). Sin embargo, hay que subrayar que la definición de Bateson se refiere a la epístasis biológica que ocurre a nivel del individuo, mientras que la de Fisher se refiere a la epístasis estadística que ocurre a nivel poblacional (**Figura 1.23**).

La epístasis biológica representa la influencia de las interacciones entre los polimorfismos genéticos en el mismo o en distintos genes sobre la característica fenotípica a través de su efecto sobre las proteínas que codifican y que interactúan físicamente entre sí en la red modular responsable de establecer el fenotipo. Los estudios de dobles mutantes homocigotos han permitido detectar la presencia de epístasis biológica en organismos simples, inferir la arquitectura de las complejas redes modulares de interacción entre genes y avanzar en la comprensión de la biología de sistemas (Aylor y cols., 2008; Phillips, 2008).

La epístasis estadística se detecta a nivel de la población explicando la variabilidad fenotípica existente. La presencia de epístasis biológica implica la existencia de epístasis estadística pero no al revés, ya que la no detección de epístasis a nivel poblacional no necesariamente indica la ausencia de epístasis biológica. Puede ocurrir que las variantes genéticas o proteicas sean idénticas en todos y cada uno de los individuos que componen la muestra estudiada no representativa de la población diana. En estas circunstancias no detectaríamos epístasis estadística, aun en el caso de que hubiera epístasis biológica a nivel individual. Con las técnicas estadísticas utilizadas actualmente no permiten determinar en qué circunstancias pueden darse falsos positivos de epístasis estadística sin que necesariamente exista epístasis biológica (Moore, 2005).

De los estudios de mutagénesis en organismos modelo sabemos que las interacciones epistáticas son un fenómeno ubicuo y que su estudio podría permitir una mejor comprensión de la estructura genética de los fenotipos complejos (McKinney y cols., 2009). En los últimos años se han desarrollado un número considerable de métodos estadísticos para detectar la presencia de epístasis a niveles de poblaciones humanas (Motsinger y cols., 2007; Musani y cols., 2007; Motsinger-Reif y cols., 2008) al igual que la detección de interacciones entre genes y factores ambientales (Chanda y cols., 2007; Dempfle y cols., 2008; Wu y cols., 2009). Sin embargo, la técnica para la evaluación de presencia de interacciones epistáticas en los estudios genéticos de asociación de fenotipos dicotómicos que más se ha utilizado es la técnica de la reducción de la dimensionalidad multifactorial o MDR (*"Multifactor Dimensionality Reduction"*) desarrollada por Ritchie y cols. (2001) (Ritchie y cols., 20001). La utilización de esta u otras técnicas ha permitido detectar interacciones epistáticas en patologías humanas complejas como la diabetes tipo 1 (Cordell y cols., 1995; Clayton, 2009) y la tipo 2 (Cox y cols., 1999; Qi y cols., 2007), la enfermedad inflamatoria intestinal (Cho y cols., 1998), la enfermedad de Hirschsprung (Carrasquillo y cols., 2002), la esclerosis múltiple (Gregersen y cols., 2006), el cáncer de próstata (Xu y cols., 2004) y el de mama (Ritchie y cols., 2001; Aston y cols., 2005), la enfermedad de Alzheimer (Reiman y cols., 2007), el glaucoma (Thorleifsson y cols., 2007), la fibrilación auricular (Gudbjartsson y cols., 2007) y el síndrome de fatiga crónica (Lin y cols., 2009) o características fenotípicas complejas como el color de la piel y el de los ojos (Branicki y cols., 2009) o los niveles séricos de triglicéridos (Brisson y cols., 2007) y de HDL (Isaacs y cols., 2007; van Acker y cols., 2008).

El método de la reducción generalizada de la dimensionalidad multifactorial o GMDR (*"Generalized Multifactor Dimensionality Reduction"*) es un nuevo método desarrollado por Lou y cols. (Lou y cols., 2007) como una extensión o generalización del método MDR desarrollado previamente por Ritchie y cols. (Ritchie y cols., 2001). El GMDR permite el análisis de fenotipos dicotómicos y cuantitativos continuos, puede ser aplicado tanto a estudios de diseño de casos y controles no balanceados como a poblaciones seleccionadas o aleatorias, y lo más importante y exclusivo, permite el ajuste por covariables cuanti y cualitativas incorporando también la interacción con factores ambientales. El método GMDR ha sido utilizado con éxito en la detección de interacciones epistáticas en la dependencia a la nicotina (Li y cols., 2008).

La presencia de interacciones epistáticas en las enfermedades poligénicas humanas ha sido ampliamente estudiada, sin embargo, a pesar de que exista el marco teórico y metodológico (Wilke y cols., 2005) necesario para investigar la presencia de interacciones genéticas en los estudios farmacogenéticos éstos son escasos. Hasta la fecha se han publicado sólo tres estudios que describen interacciones epistáticas en la respuesta hipolipemiente a la atorvastatina (Kajinami y cols., 2004d; Kajinami y cols., 2005a y 2005b).

1.10.- Ensayos de bioequivalencia

Los medicamentos genéricos son formulaciones del mismo principio activo con un precio bastante inferior a los medicamentos “de marca” que ya no están protegidos por derechos de patente, siendo esta la principal justificación de su existencia. Son más baratos tanto para el paciente como para el sistema sanitario porque la inversión económica realizada por el laboratorio farmacéutico para su desarrollo y comercialización es menor que en el caso de los medicamentos innovadores, ya que no es necesario demostrar la eficacia y la favorable relación riesgo/beneficio del producto, ni descubrir las indicaciones para las que va a ser utilizado, ni la pauta de administración más adecuada, aspectos que ya han sido demostrados por el producto original o innovador (Guerra y Lubomirov, 2006).

Los estudios de bioequivalencia, cuyo nombre completo es estudios de bioequivalencia farmacocinética, son ensayos clínicos que tienen por objetivo demostrar que dos formulaciones de un mismo principio activo presentan un comportamiento farmacocinético tan semejante que se puede asumir sin riesgo de equivocación mayor que presentarán, de la misma forma, efectos farmacológicos igualmente semejantes (Guerra y Lubomirov, 2006). Esta afirmación se basa en el principio de que a iguales concentraciones plasmáticas de una misma sustancia corresponden iguales efectos farmacocinéticos.

La demostración de bioequivalencia farmacocinética es la condición necesaria, en la mayoría de los casos, para poder afirmar que dos medicamentos con la misma cantidad de un mismo principio activo producen el mismo efecto terapéutico (equivalencia terapéutica) y pueden ser responsables de la aparición de los mismos efectos adversos (seguridad) y por tanto ambos preparados farmacéuticos pueden ser considerados intercambiables por parte de las autoridades sanitarias (Guerra y Lubomirov, 2006).

Los parámetros farmacocinéticos necesarios para la demostración de bioequivalencia entre dos formulaciones del mismo principio activo son la cantidad total de fármaco absorbida, medida como el área bajo la curva concentración tiempo (AUC, del inglés “*area under the curve*”), y en la velocidad de absorción (la velocidad con la que el fármaco puede estar disponible para ejercer su acción en el organismo), medida como el tiempo (T_{max}) en el que se alcanza la concentración máxima (C_{max}). Estos parámetros farmacocinéticos caracterizan la biodisponibilidad de un principio activo, esto es, la velocidad y la magnitud con la que un ingrediente activo es absorbido desde un producto farmacéutico y está disponible (disposición)

para ejercer su efecto farmacológico en el organismo (Guerra y Lubomirov, 2006). Su cálculo se realiza midiendo las concentraciones del principio activo del fármaco en una matriz biológica fácilmente accesible, generalmente en sangre periférica, ya que no suele ser posible medirlas en la biofase o lugar de acción del mismo.

Así, se entiende por bioequivalencia entre dos productos farmacéuticos cuando presentes una biodisponibilidad comparable en condiciones experimentales apropiadas. De acuerdo a las actuales normas de consenso (EMA, 2001; FDA, 2002) se considera que dos formulaciones poseen una biodisponibilidad comparable si la diferencia en la velocidad y magnitud de la absorción entre ellas es inferior al 20% (entendiendo este 20% no en cantidad de fármaco, sino en que el intervalo de confianza del 90% para la diferencia entre las medias de los parámetros farmacocinéticos de las dos formulaciones comparadas no sea ni superior ni inferior al 20%). Este límite de aceptabilidad se decidió en base a que una diferencia de un 20% en la disposición del fármaco activo en sangre, resultado de la variabilidad permitida en las características de composición de los lotes galénicos, de circunstancias ambientales y particulares de las personas, no posee relevancia desde el punto de vista clínico para la inmensa mayoría de los fármacos.

El diseño de los estudios de bioequivalencia es el de un ensayo clínico cruzado y con asignación aleatoria de dos secuencias de tratamiento, con dos períodos y con administración de una dosis única de los fármacos en estudio en cada uno de los periodos (diseño cruzado 2x2) (**Figura 1.24**).

Los participantes en el ensayo reciben las dos formulaciones que se estudian, pero en diferente orden. Lo que se asigna aleatoriamente no es por tanto el fármaco, sino el orden en el que lo recibirán; primero la formulación del fármaco “de marca” o innovador considerado de referencia (R), seguida de la nueva formulación a testar (secuencia RT) o primero la formulación test (T) seguida de la formulación de referencia (secuencia TR). Cada periodo (día) del estudio se administra una dosis única de cada una de las formulaciones, generalmente en ayunas. Entre cada administración de fármaco existe un periodo de lavado de una duración suficiente para permitir que se hallan eliminado del organismo todo el fármaco y sus metabolitos antes de administrar la segunda dosis. Este periodo de lavado cuyo objetivo es eliminar la posibilidad de que existan efectos residuales de las formulaciones administradas debe prolongarse durante un tiempo que como mínimo, sea superior a 5 veces la vida media de eliminación de los fármacos en estudio (Guerra y Lubomirov, 2006).

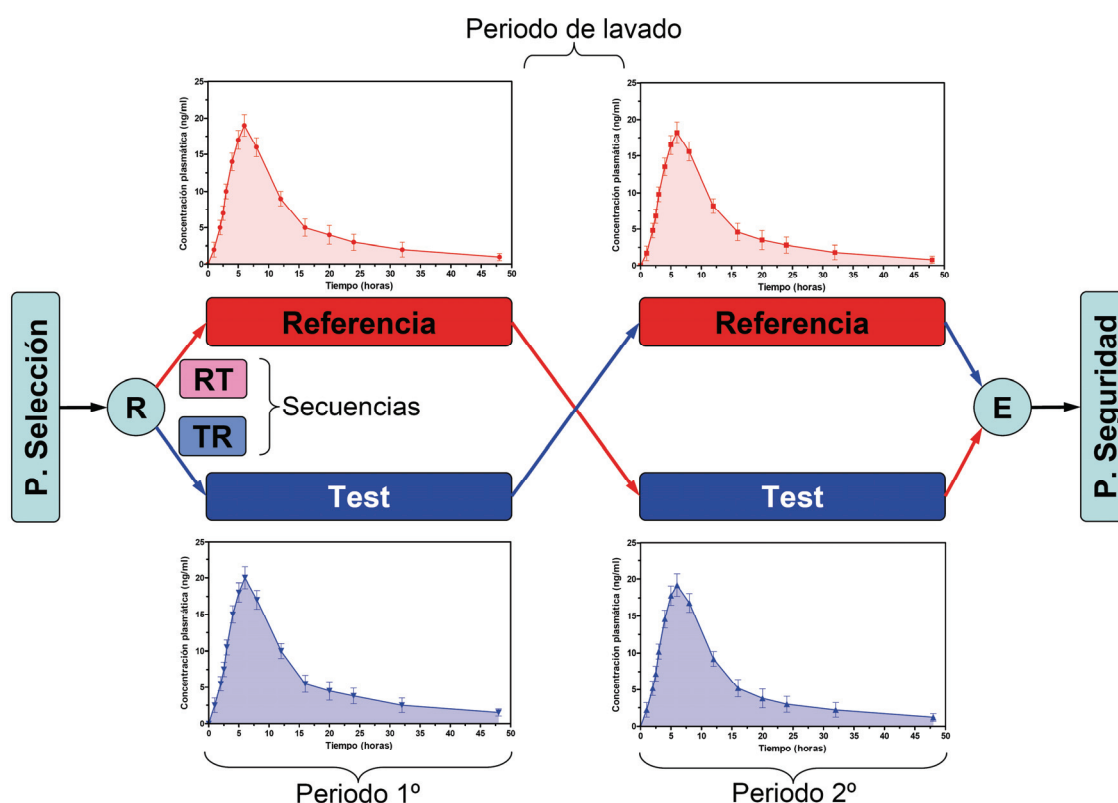


Figura 1.24. Diseño de un estudio de bioequivalencia clásico, cruzado de 2 periodos y 2 secuencias.

El diseño es el de un ensayo clínico cruzado con asignación aleatoria (R) de las dos secuencias de tratamiento (RT o TR), con dos periodos en los cuales se administra una dosis única de las dos formulaciones (Test y Referencia) (diseño cruzado 2x2). Los sujetos son sus propios controles ya que reciben las dos formulaciones en el orden asignado de forma aleatoria. En el periodo de reclutamiento se realizan las pruebas de selección que confirman el cumplimiento de los criterios de inclusión y en el periodo de seguimiento se realiza la evaluación (E) y las pruebas de seguridad.

Los criterios que se aplican a la selección de los participantes en los estudios de bioequivalencia tienen por objetivo reducir la variabilidad aportada por las características demográficas y antropométricas de los participantes o por situaciones patológicas, de manera que si aparecen diferencias relevantes en el comportamiento farmacocinético de los medicamentos estudiados éstas no puedan ser atribuidas a la heterogeneidad de los participantes, sino a que realmente los fármacos se comportan de manera diferente. Por este motivo se eligen voluntarios sanos, que pueden ser de ambos sexos, de peso normal o de índice de masa corporal dentro de límites normales, de edades comprendidas entre 18 y 55 años, no fumadores ni bebedores.

Por regla general, cuanto mayor es la variabilidad interindividual de los parámetros farmacocinéticos (AUC y C_{max}) es necesario un mayor número de participantes, aunque resulta relativamente poco frecuente que sea absolutamente necesario, salvo en los casos en que se estudien fármacos con una variabilidad interindividual muy elevada o cuya cuantificación en las muestras biológicas obtenidas en el estudio sea especialmente complicada, que el número de participantes sea superior a 36 (Guerra y Lubomirov, 2006). El tamaño muestral de los ensayos de bioequivalencia es el principal factor del que depende la probabilidad de concluir erróneamente que dos formulaciones no son bioequivalentes.

Todas las condiciones ambientales que rodean la realización del estudio y a sus participantes se estandarizan al máximo posible para reducir fuentes de variabilidad no controlada. Así la ingesta de líquidos y la dieta son iguales todos los días del estudio, el ejercicio físico se reduce a los mínimos imprescindibles, se prohíbe la ingesta de alimentos o bebidas que pudieran modificar el comportamiento farmacocinético, como bebidas alcohólicas o productos que contengan xantinas y el consumo de drogas de abuso, porque pueden modificar e interferir con los procesos metabólicos de los fármacos y por tanto modificar su biodisponibilidad. Por último, la administración de los fármacos en estudio se realiza de forma estandarizada e idéntica a todos los participantes.

El número de muestras y los tiempos en los que se deben obtener deben ser los adecuados para definir el perfil de la curva concentración-tiempo y sus distintas fases (absorción, distribución, metabolismo y eliminación) de forma que se pueda caracterizar adecuadamente la C_{max} y el momento en que aparece (T_{max}) y al menos el 80% del AUC (Guerra y Lubomirov, 2006). Habitualmente es suficiente con la obtención de entre 12 y 18 muestras para cada formulación, que se deberían prolongar durante al menos 3 vidas medias. Una vez extraídas, las muestras se deben procesar y conservar adecuadamente y con arreglo a las instrucciones, que establecidas previamente en el protocolo del estudio, garanticen la conservación óptima de la sustancia a cuantificar en la matriz biológica en la que está contenida.

El método analítico debe estar perfectamente validado; es imprescindible que reúna las condiciones de precisión (sensibilidad y especificidad) y reproducibilidad adecuadas para garantizar que los resultados que se obtienen corresponden realmente a lo que se desea medir. Como es lógico lo más frecuente es medir la concentración plasmática del fármaco administrado.

Los parámetros farmacocinéticos sobre los que se basará la afirmación de bioequivalencia, se calculan a partir de la curva de las concentraciones del fármaco durante el tiempo en el que se extraen las muestras, a partir de la administración de cada una de las formulaciones. El método de análisis farmacocinético que se utiliza es el que somete a los datos observados directamente a partir de esta curva concentración-tiempo a la menor manipulación posible, mediante un análisis independiente de modelo en el que se realiza un ajuste lineal para el cálculo de la constante de eliminación y por tanto de la vida media de eliminación y del AUC entre 0 e infinito ($AUC_{0-\infty}$).

Según las recomendaciones de las agencias reguladoras (EMA, 2001; FDA, 2002), los parámetros farmacocinéticos adecuados para el estudio de la bioequivalencia son el AUC, la C_{max} , como parámetros primarios, y la T_{max} como parámetro secundario.

El AUC se calcula por el método trapezoidal, que se puede medir desde la administración del fármaco hasta la última muestra con concentración cuantificable (AUC_{0-t}) o extrapolándola hasta que la concentración llegue a cero ($AUC_{0-\infty}$). Esta extrapolación se calcula como prolongación de la recta de la fase de eliminación (última concentración medida dividida por la constante de eliminación) y no debe ser superior al 20% del área bajo la curva que describen los valores de las concentraciones del fármaco desde el momento de su administración hasta el tiempo en el que aparece la última concentración cuantificable. Estas áreas bajo la curva son los parámetros farmacocinéticos que reflejan la cantidad de fármaco biodisponible.

La C_{max} y el tiempo en el que se alcanza (T_{max}), se obtienen de forma directa de las concentraciones plasmáticas y ésta última refleja la velocidad con la que el fármaco puede ser utilizado por el organismo. La evaluación estadística de la T_{max} solo tiene sentido como criterio principal de bioequivalencia cuando una velocidad de liberación del principio activo más o menos rápida puede relacionarse con un efecto clínico relevante, como en el caso de los analgésicos, o con la aparición de efectos adversos, como podría ser el caso de los antihipertensivos.

En los estudios de bioequivalencia el objetivo es demostrar que ambas formulaciones son prácticamente indistinguibles por lo que en este caso la hipótesis nula es que las dos formulaciones son diferentes, de tal forma que si asumimos un error alfa de 0,05 la probabilidad de que se concluya erróneamente que dos

formulaciones son bioequivalentes si no lo son, es de sólo un 5% (Guerra y Lubomirov, 2006). Con un poder de un 80% tendremos una probabilidad de un 20% de no ser capaces de demostrar la bioequivalencia de dos formulaciones que realmente sí lo son.

El interés cuando se realiza el análisis de los resultados de un estudio de bioequivalencia cruzado es detectar diferencias entre ambas formulaciones (efecto formulación), pero el diseño permite además detectar otros factores existentes en la comparación, como diferencias en los parámetros farmacocinéticos en cuanto al orden de administración, esto es, la secuencia en la que se administran las formulaciones (efecto secuencia); en cuanto al periodo en que se realiza la administración de cada una de ellas (efecto periodo); y por último, el posible efecto del fármaco administrado en el primer periodo sobre el fármaco administrado en el segundo periodo (efecto de arrastre o "*carry-over*") (Guerra y Lubomirov, 2006).

Los ensayos clínicos de bioequivalencia se diseñan con la finalidad de que sean capaces de explorar las características farmacocinéticas de dos formulaciones de un medicamento en un entorno en el que pueden controlarse una serie de factores que, o bien se conocen de antemano que pueden modificar la farmacocinética del fármaco o que, desconociéndose *a priori*, pueden ser reconocidos y analizados *a posteriori*. Esta circunstancia convierte a estos ensayos en el medio ideal para investigar el efecto de la presencia de uno o varios de los polimorfismos genéticos en las enzimas metabolizadoras y/o en los transportadores sobre la disposición y metabolismo de los fármacos, en un entorno en el que la mayoría de los factores que podrían ser causa añadida de variabilidad puedan ser controlados por el investigador.

2 OBJETIVOS

2.1.- Objetivos generales

El objetivo principal de la presente Tesis es determinar la contribución del polimorfismo genético en las enzimas metabolizadoras, transportadores y receptores nucleares a la variabilidad en los parámetros farmacocinéticos de lovastatina, simvastatina y pravastatina en una población de voluntarios sanos españoles.

Como objetivo secundario hemos establecido la realización de un análisis exploratorio la contribución de los mismos polimorfismos genéticos a la variabilidad en el parámetro farmacodinámico de reducción de los niveles de colesterol total con lovastatina, simvastatina y pravastatina en una población de voluntarios sanos españoles.

2.2.- Objetivos específicos

1.- Describir las frecuencias genotípicas y alélicas de 17 polimorfismos en 10 genes (*CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP1A2*, *PON3*, *CES2*, *ABCB1*, *SLCO1B1*, *NR1I2*, *NR1I3* y *GNB3*) en una población de voluntarios sanos españoles y compararlas con las del Proyecto HapMap y otras poblaciones españolas estudiadas.

2.- Analizar la existencia de diferencias y su magnitud en las variables farmacocinéticas de lovastatina, simvastatina y pravastatina entre hombres y mujeres.

3.- Analizar la existencia de diferencias y su magnitud en las variables farmacocinéticas y farmacodinámicas de lovastatina, simvastatina y pravastatina entre los genotipos de los polimorfismos genéticos estudiados.

4.- Analizar la existencia de interacción entre el sexo y los polimorfismos genéticos en las variables farmacocinéticas de lovastatina, simvastatina y pravastatina.

5.- Determinar el porcentaje de la variabilidad en las variables farmacocinéticas y farmacodinámicas de lovastatina, simvastatina y pravastatina explicado por el sexo y los polimorfismos genéticos estudiados.

6.- Detectar la presencia de epístasis o interacción entre los polimorfismos genéticos en las variables farmacocinéticas y farmacodinámicas de lovastatina.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.- Población de estudio

3.1.1.- Criterios de selección de los participantes

El estudio farmacogenético se realizó en 207 voluntarios sanos participantes en siete ensayos clínicos de bioequivalencia llevados a cabo en la Unidad de Ensayos Clínicos del Centro de Farmacología Clínica del Departamento de Farmacología y Terapéutica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM), que previamente habían otorgado por escrito su consentimiento para participar en el estudio farmacogenético (**Tabla 3.1**).

Tabla 3.1. Ensayos de bioequivalencia y número de voluntarios que forman parte de la población de estudio (CFC-ESP).*

Nº Ensayo	Código	Fármaco (formulación de referencia)	Dosis	Nº Voluntarios (mujeres)	Fechas de realización
73-LOV	LOV-AF/00-02	Lovastatina (Mevacor®)	40 mg	36 (18)	Jun. – Jul. 2000
78-LOV	N-LOV-00/42	Lovastatina (Mevacor®)	40 mg	36 (18)	Oct. – Nov. 2000
84-SIM	N-SIM-00/45	Simvastatina (Zocor®)	40 mg	36 (18)	Feb. 2001
87-LOP	N-LOP-01/57	Loperamida (Fortasec®)	16 mg	36 (18)	May. – Jun. 2001
91-PRA	N-PRA-01/59	Pravastatina (Lipemol®)	40 mg	36 (18)	Sep. – Oct. 2001
92-LOV	LOV-AF/01-04	Lovastatina (Mevacor®)	40 mg	36 (18)	Oct. 2001
105-MIR	N-MIR-02/69	Mirtazapina (Rexer®)	30 mg	36 (18)	Oct. – Nov. 2002

* La población de estudio CFC-ESP consta de 207 voluntarios y no de 252 al haber participado varios de ellos en más de un ensayo (para más detalles véase **Tabla 3.2**)

Los voluntarios incluidos en el estudio farmacogenético reunían los siguientes criterios de selección:

Criterios de inclusión

- Sujetos varones y mujeres que tras haber recibido información sobre el diseño, los fines del estudio, los posibles riesgos que de él pueden derivarse y de que en cualquier momento pueden denegar su colaboración, otorguen por escrito su consentimiento para participar tanto en el estudio de bioequivalencia como en el estudio farmacogenético.
- Edad comprendida entre 18 y 35 años.
- Sujetos libres de patología orgánica o psíquica.
- Historia clínica y exploración física dentro de la normalidad.
- Registro electrocardiográfico dentro de la normalidad.
- Ausencia de anormalidades en los análisis de hematología, bioquímica, virología (serología para VHB, VHC y VIH) y orina.

- Test de embarazo en orina negativo en el caso de las mujeres además del compromiso de evitar el embarazo durante el tiempo que dure el estudio utilizando un método anticonceptivo no hormonal de eficacia acreditada.

Criterios de exclusión

- Sujetos afectados de patología orgánica o psíquica.
- Antecedentes de hipersensibilidad a cualquier fármaco.
- Presencia de anomalías clínicamente relevantes en los análisis de hematología, bioquímica, virología (serología para VHB, VHC y VIH) y orina.
- Poseer un índice de masa corporal (IMC) o de Quetelet menor de 18 o mayor de 30 calculado con la siguiente fórmula:

$$\text{IMC} = \text{peso (kg)} / \text{talla}^2 \text{ (m)}$$

- Haber recibido tratamiento farmacológico de prescripción en los últimos 30 días o algún tipo de medicamento en las 48 horas antes de recibir la medicación del estudio.
- Sospecha de consumo de drogas de abuso y/o hábito tabáquico.
- Consumo diario de alcohol y/o intoxicación etílica aguda en la última semana.
- Realizar durante el estudio esfuerzos físicos intensos o consumir bebidas que contengan té, café, cacao, cola o alcohol desde 48h antes de cada día de ingreso.
- No haber completado los dos periodos del ensayo de bioequivalencia.

3.1.2.- Voluntarios que han participado en más de un ensayo clínico de bioequivalencia.

En el estudio farmacogenético hemos incluido los voluntarios que han participado en 7 ensayos clínicos (EC) de bioequivalencia, de los cuales 5 fueron con estatinas (lovastatina, LOV; simvastatina, SIM; pravastatina, PRA) y 2 con otros fármacos. En cada EC de bioequivalencia participaron 36 voluntarios, por lo que el número total de participantes hubiera sido de 252 si 36 voluntarios no hubieran participado en más de un EC. En la **Tabla 3.2** se enumeran por orden ascendente los 36 individuos identificados con el número de voluntario correspondiente al primer EC en el que participaron junto con el número de voluntario con el que han repetido en los sucesivos EC. De estos 36, 29 participaron en dos, 5 participaron en tres y 2 participaron en cuatro EC; en total 45 voluntarios repetidos. De este modo, el

número final de individuos incluidos en el estudio farmacogenético fue de 207 (106 hombres y 101 mujeres).

Tabla 3.2. Voluntarios de la población de estudio (CFC-ESP) que han participado en más de uno de los 7 ensayos clínicos incluidos.						
Ensayo	Vol*	105-MIR	92-LOV	91-PRA	87-LOP	84-SIM
73-LOV (n=13)	4				13	
	5					19
	7				16	
	9					26
	10			13		
	11				19	
	14	34				
	16					3
	18					1
	22		24		28	
	23		7			23
	24					19
	30		2			2
78-LOV (n=11)	4				9	
	5					30
	6					28
	8			23		
	11	6		12		21
	13				34	
	20	7		32		
	21				25	
	22				27	
	24			34	30	11
	26			25		
84-SIM (n=3)	7		3			
	25	33				
	31				14	
87-LOP (n=3)	18			22		
	20			30		
	24		21			
91-PRA (n=5)	2	1				
	6	8				
	20	23				
	29	13				
	33	15				
92-LOV	1	4				

* En la primera columna de la izquierda aparecen los números de los voluntarios de los correspondientes ensayos y en las siguientes, los números con los que han repetido en los sucesivos ensayos.

Tabla 3.3.
Voluntarios que han participado en más de un ensayo clínico con lovastatina.

Ensayo	Vol*	78-LOV	92-LOV
73-LOV (n=6)	5	9	
	16	3	
	22		24
	23	23	7
	24	19	
	30	2	2

* En la primera columna de la izquierda aparecen los números de los voluntarios del primer ensayo y en las siguientes, los números con los que han repetido en los sucesivos ensayos.

Dado que disponemos de tres EC de bioequivalencia con LOV (73-LOV, 78-LOV y 92-LOV) y además con la misma dosis administrada (40 mg) los hemos juntado con el objetivo de triplicar el tamaño muestral. No obstante, como seis de los 36 voluntarios del primer EC (73-LOV), también habían participado en uno (cuatro de ellos) o en dos (dos de ellos) de los siguientes EC (78-LOV y 92-LOV) (véase **Tabla 3.3**) hemos incluido en el estudio farmacogenético sólo sus datos farmacocinéticos y farmacodinámicos correspondientes al primer EC en el que participaron. Así, el número final de individuos incluidos en el estudio farmacogenético con LOV fue de 100 (51 hombres y 49 mujeres).

3.2.- Análisis genotípico

3.2.1.- Criterios de selección de los genes y polimorfismos en estudio

En nuestro estudio hemos seleccionado para genotipar a 17 polimorfismos o SNPs ("single nucleotide polymorphisms") en 10 genes involucrados en los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación (ADME) de las estatinas lovastatina, simvastatina y pravastatina (**Tabla 3.4**). Estos genes se pueden agrupar según la función de las proteínas que codifican en tres grandes grupos: 1) enzimas metabolizadoras de fármacos, 2) transportadores de fármacos y 3) receptores nucleares.

Cinco de los genes investigados codifican a enzimas metabolizadoras de fármacos, de los cuales, tres pertenecen a la superfamilia de los citocromos P-450 (*CYP3A4*, *CYP3A5* y *CYP1A2*) y dos a la de las esterasas (*CES2* y *PON3*).

Las enzimas *CYP3A4* y *CYP3A5* son las responsables de catalizar el 80% del metabolismo oxidativo de las lactonas y de los hidroxiácidos de lovastatina y simvastatina (Christians y cols., 1998; Vyas y cols., 1990; Prueksaritanont y cols., 1997 y 2003) (véanse **Figura 1.6** y **1.7**, pág. 22 y 23). Su papel en la formación de los metabolitos oxidativos de la pravastatina es también destacado (Jacobsen y cols., 1999a), aunque la oxidación sea una vía metabólica minoritaria en el metabolismo de esta estatina (véase **Figura 1.8**, pág. 24); en este caso existen además pruebas indirectas que sugieren la participación en ella de otras enzimas como la *CYP1A2* (Soucek y cols., 1992; Christians y cols., 1998).

La *CYP3A4* y la *CYP3A5* se expresan de forma constitutiva en hígado y en intestino delgado siendo las isoformas de citocromo P450 más abundantes en estos órganos (Wrighton y cols., 2000). Según algunas estimaciones intervienen en el metabolismo de más del 60% de los fármacos de uso humano desempeñando un papel clave en el metabolismo de primer paso hepático e intestinal (Williams y cols., 2008).

Los dos polimorfismos del gen *CYP3A4* que hemos decido investigar son el *CYP3A4**17 (rs4987161) y el *18 (rs28371759), en nuestro estudio los SNP17 y 16, respectivamente (**Tabla 3.4**). Se trata de dos variantes alélicas con efecto funcional opuesto. El alelo *CYP3A4**17 (rs4987161 T>C) se localiza en el exón 7 y conlleva la sustitución en el codón 189 de la fenilalanina por una serina. Este cambio en la secuencia proteica supone un drástico descenso en la actividad metabolizadora de la *CYP3A4* ya que estudios *in vitro* han demostrado que la presencia de serina en el codón 189 se asocia a un descenso mayor del 90% en el metabolismo *CYP3A4*-dependiente de la testosterona (Dai y cols., 2001) y del nifedipino (Lee y cols., 2005a). El alelo *CYP3A4**18 (rs28371759 T>C) localizado en el exón 10 conlleva la sustitución en el codón 293 de la leucina por una prolina. A diferencia del caso anterior, este cambio en la secuencia proteica supone un aumento sustrato-dependiente de la actividad metabolizadora de la *CYP3A4*, ya que en estudios *in vitro* la presencia de la prolina en el codón 293 produce un aumento significativo en el metabolismo de estrógenos y testosterona (Dai y cols., 2001; Kang y cols., 2009) pero no en el de nifedipino (Lee y cols., 2005a).

El único polimorfismo del gen *CYP3A5* que hemos decidido investigar es el alelo *CYP3A5*3* (rs776746 A>G), identificado en nuestro estudio como el SNP10 (**Tabla 3.4**). Se trata de un polimorfismo localizado en el intrón 3 que genera un sitio críptico de *splicing* alternativo y un exón 3B que contiene un codón de parada prematuro. La proteína truncada a la que da lugar este transcrito alternativo contiene solo los primeros 109 aminoácidos. Dado que carece de dominio catalítico la actividad metabolizadora de la *CYP3A5* está ausente en los portadores homocigotos de esta variante alélica (Kuehl y cols., 2001).

La *CYP1A2* se expresa exclusivamente a nivel hepático representando el 15% de los citocromos P450 en este órgano (Shimada y cols., 1994; Gunes y cols., 2008) y contribuye a metabolizar al menos el 10% de los fármacos utilizados en clínica (Williams y cols., 2008). El único polimorfismo en este gen que hemos decidido investigar es el alelo *CYP1A2*1F* (rs762551 C>A), identificado en nuestro estudio como el SNP14 (**Tabla 3.4**). Se trata de una variante alélica localizada en el intrón 1 asociada a una mayor inducibilidad (Sachse y cols., 1999; Han y cols., 2002) de la enzima dando lugar a un fenotipo metabolizador ultra rápido manifestado como un aumento del metabolismo de cafeína (Sachse y cols., 1999, Chida y cols., 1999; Ghotbi y cols., 2007) y olanzapina (Laika y cols., 2009) en los portadores del alelo A (*1F) respecto al de referencia C (*1A).

Las esterasas, concretamente las carboxilesterasas (CESs) (Tang y cols., 1995; Fleming y cols., 2005) y las paraoxonasas (PONs) (Billecke y cols., 2000; Draganov y cols., 2000 y 2005), son las enzimas encargadas de catalizar la hidrólisis enzimática de las lactonas para dar lugar a los correspondientes hidroxiácidos (véase **Figura 1.5**, pág. 19), tanto en las estatinas administradas en forma de lactona, como la lovastatina y simvastatina, como en el caso de las administradas en forma de hidroxiácido activo, como la pravastatina.

En humanos existen 6 genes de CESs que están localizados en el cromosoma 16 formando dos grupos o *clusters*: el *CES4-CES1-CES7* y el *CES2-CES3-CES6* (Holmes y cols., 2008). El gen *CES1* codifica la isoforma mayoritaria en el hígado, aunque se expresa, también, en epitelio pulmonar y otros tejidos. El gen *CES2* codifica, a su vez, la isoforma mayoritaria a nivel intestinal con expresión, también, en hígado, riñón, corazón y músculo estriado. El gen *CES3* se expresa en hígado, colon e intestino delgado. Hasta la fecha los productos de los genes *CES4*, *CES6* y *CES7* no están suficientemente caracterizados a nivel proteico.

El único polimorfismo de las carboxilesterasas que hemos decidido investigar es el rs2241409 (IVS10-108C>T), identificado en nuestro estudio como el SNP15 (**Tabla 3.4**), perteneciente al gen *CES2*. En la literatura existen resultados conflictivos respecto a su asociación con la pérdida de actividad enzimática (Charasson y cols., 2004; Kubo y cols., 2005) pero hay cierto consenso en que se asocia a un descenso en la expresión a nivel de ARNm (Marsh y cols., 2004; Wu y cols., 2004). Recientemente se le ha relacionado con una variante de *splicing* alternativo (*CES2*Δ⁴⁵⁸⁻⁴⁷³) asociada con pérdida de actividad catalítica (Schiel y cols., 2007).

En humanos la familia de las *PONs* está compuesta por tres miembros: *PON1*, *PON2* y *PON3*; localizados en el cromosoma 7 formando un único *cluster*. Las *PONs* poseen una actividad lactonasa, es decir, hidrolizan lactonas, aunque con diferente afinidad por los sustratos (Draganov, 2007). La *PON1* es sintetizada en el hígado y gran parte de ella es secretada a la sangre donde circula unida a la fracción HDL. La *PON3*, al igual que *PON1*, se sintetiza en el hígado, aunque sólo 5% de ella es secretado al torrente circulatorio, también, se expresa a lo largo de todo el tracto gastrointestinal sobre todo en esófago y estómago. Se considera que la *PON3* ejerce su papel fisiológico a nivel hepático y que su presencia en suero unida a las HDL es más bien una situación patológica (Draganov, 2007). La *PON2* no se detecta en suero pero se expresa en cerebro, hígado, riñón y testículos.

El único polimorfismo de las paraoxonasas que hemos decidido investigar es el rs10487132 (IVS2-784A>G), identificado en nuestro estudio como el SNP9 (**Tabla 3.4**), perteneciente al gen *PON3*. Se trata de un SNP intrónico que se ha asociado a un elevado riesgo de desarrollar la forma esporádica de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) (Saeed y cols., 2006; Cronin y cols., 2007). Aunque su efecto funcional no se ha investigado en estudios funcionales *in vitro*, se presupone que induce una pérdida de actividad metabolizadora paraoxonasa y como consecuencia una menor detoxificación de pesticidas organofosforados haciendo más susceptibles las motoneuronas a estos tóxicos ambientales. En apoyo de esta hipótesis un estudio reciente ha demostrado la existencia de una interacción genético-ambiental en la predisposición a la ELA esporádica (Morahan y cols., 2007). Un meta-análisis reciente no ha podido confirmar la asociación de este polimorfismo con el riesgo de ELA (Wills y cols., 2009), sin embargo, se ha asociado con variaciones en la actividad metabólica de la *PON1* (Sanghera y cols., 2008).

Dos de los genes investigados codifican a proteínas transportadoras de fármacos, uno de cada una de las dos grandes superfamilias de transportadores; el gen *ABCB1* que pertenece a los transportadores con dominios de unión e hidrólisis de ATP ("*ATP-Binding Cassette*" o *ABC*) y el gen *SLCO1B1* que pertenece a los transportadores de solutos ("*SoLute Carrier*" o *SLC*).

El gen *ABCB1* codifica a la glicoproteína-P (P-gp), también, conocida como MDR1, presente en la membrana apical de los enterocitos y células tubulares renales, la membrana canalicular de los hepatocitos y en la barrera hematoencefálica, los plexos coroideos, placenta y los linfocitos de sangre periférica (Zhou y cols., 2008) facilitando la excreción al exterior celular de diversos endo y xenobióticos (véase **Figura 1.15**, pág. 38). Entre sus sustratos destacan las estatinas lovastatina, simvastatina, pravastatina, investigadas en nuestro estudio, cerivastatina, pitavastatina y rosuvastatina (véase **Tabla 1.4**, pág. 40). En cambio, el gen *SLCO1B1* es un transportador *SLC* de aniones orgánicos ("*SoLute Carrier Organic anion transporter 1B1*"), que codifica al polipéptido transportador de aniones orgánicos 1B1 ("*Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1*" o OATP1B1), se expresa casi exclusivamente en la membrana sinusoidal de los hepatocitos (Niemi, 2007) donde se encarga de la captación celular de diversos endo y xenobióticos (véase **Figura 1.15**, pág. 38). Entre sus sustratos se encuentran todas las estatinas a excepción de la lovastatina que ha demostrado ser sólo inhibidor (véase **Tabla 1.4**, pág. 40).

Los dos polimorfismos en el gen *ABCB1* que hemos decidido investigar son el rs1045642 (Ex27-55C>T), también conocido como c.3435C>T, y el rs2235048 (IVS27+80C>T), identificados en nuestro estudio como el SNP8 y el SNP7, respectivamente (**Tabla 3.4**). En el primer caso se trata de un SNP exónico que, sin embargo, no produce cambio en la secuencia proteica (p.I1145I), el segundo, en cambio, es intrónico y entre ambos existe un elevado desequilibrio de ligamiento ($R^2=0.98$) (Soranzo y cols., 2004). Ambos se han asociado a un descenso en la actividad transportadora (Soranzo y cols., 2004; Colombo y cols., 2005). Un estudio reciente ha desvelado que esta pérdida de actividad asociada al polimorfismo c.3435C>T es debida al cambio en el codón habitual utilizado para codificar la isoleucina 1145 por otro más inusual (Kimchi-Sarfaty y cols., 2007). La utilización de un ARN de transferencia menos frecuente usado para transcribir la misma isoleucina provocaría un retraso en la translación con la consiguiente alteración en el plegamiento cotranslacional del péptido naciente. La alteración en

la estructura tridimensional de la proteína alteraría su inserción en la membrana plasmática y como consecuencia su actividad transportadora.

En el caso del transportador de captación hepatocitaria, *SLCO1B1*, las dos variantes alélicas que hemos decidido investigar son la *SLCO1B1*1b* o rs2306283 (Ex5+29A>G, c.388A>G, p.N130D) y la *SLCO1B1*5* o rs4149056 (Ex6+40T>C, c.521T>C, p.V174A), identificados en nuestro estudio como el SNP12 y el SNP13, respectivamente (**Tabla 3.4**). Se trata de dos polimorfismos que tiene una repercusión funcional diferente. Si el alelo **1b* parece estar asociado a un aumento en la actividad transportadora (Mwinyi y cols., 2004; Maeda y cols., 2006), el alelo **5* causa una pérdida de actividad (Kameyama y cols., 2005). Estas variantes alélicas han demostrado en numerosos estudios *in vivo* que repercuten sobre la exposición de muchas de las estatinas al igual que otros fármacos transportados por el transportador *SLCO1B1* (Niemi y cols., 2007; Maeda y cols., 2008).

El tercer grupo de genes lo constituyen los receptores nucleares. Hemos decidido investigar dos de sus miembros más importantes, el gen *NR1I2* y el *NR1I3*. Al *NR1I2* se le conoce también como receptor X de pregnano o PXR ("*pregnane X receptor*"), receptor de esteroides y de xenobióticos o SXR ("*steroid and xenobiotic receptor*") o receptor activado por pregnano o PAR ("*pregnane-activated receptor*") (Zhang y cols., 2008). El receptor nuclear *NR1I3* recibe también el nombre de receptor constitutivo de androstano o CAR ("*constitutive androstane receptor*") (Lamba, 2008b). La unión de un ligando hace que estos receptores nucleares sufran un cambio conformacional seguido por una heterodimerización con el receptor nuclear RXR ("*retinoid X receptor*") y translocación al núcleo donde se unen a los elementos de respuesta al PXR ("*PXR response elements*" o *PXRE*) localizados en los promotores de sus genes diana aumentando su actividad transcriptional. La lista de sus ligandos endo y xenobióticos es muy amplia, destacando entre estos últimos las estatinas (Willrich y cols., 2009). Sus genes diana son también muy variados abarcando a las enzimas metabolizadoras de fármacos de fase I (CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5 y CYP3A7), las de fase II (glutación-S-transferasas, GSTs; UDP-glucuronil transferasas, UGTs y sulfotransferasas, SULTs) y varias proteínas transportadoras de fármacos (ABCB1, ABCC2, ABCC4 y *SLCO1A2*) (Lamba, 2008b; Zhang y cols., 2008; Meyer y cols., 2009). Un estudio reciente ha demostrado que PXR y CAR regulan la expresión de la carboxilesterasa CES2 de ratón (Xu y cols., 2009) y que PXR regula la expresión de CES 1 y CES2 en hepatocitos humanos (Zhu y cols., 2000). Los genes *NR1I2* y *NR1I3* se expresan fundamentalmente a nivel de los

hepático e intestinal, aunque se han detectado también a nivel de los linfocitos de sangre periférica (Lamba, 2008b; Zhang y cols., 2008).

Los tres polimorfismos asociados a cambios funcionales en el gen *NR1I2* que hemos decidido investigar son el rs3814055 (Ex1+705C>T), rs3814057 (Ex10-79A>C) y el rs3814058 (Ex10-42T>C), también conocidos como -25385C>T, c.11156A>C y c.11193T>C e identificados en nuestro estudio como SNP4, SNP5 y SNP6, respectivamente (**Tabla 3.4**). En el primer caso se trata de un SNP localizado en el promotor del gen en un sitio putativo de unión de los factores de transcripción NF- κ B y el ISFG-3 (Lamba y cols., 2008a; Zhang y cols., 2008) que en estudios *in vitro* ha demostrado estar asociado a una mayor transactivación y un mayor aumento en la actividad CYP3A (TT>CC) inducida por rifampicina cuantificada *in vivo* mediante el test del aliento de eritromicina ("*erythromycin breath test*" o ERMBT) (Zhang y cols., 2001; Lamba y cols., 2005). Los otros dos polimorfismos, el SNP5 y el SNP6, localizados en la región no codante (3'-UTR) del gen, se han asociado a un descenso en la transactivación de PXR y a una reducción en la expresión protéica *in vivo* del transportador ABCB1 (SNP5 AA>AC+CC y SNP6 TT>TC+CC) a nivel intestinal (Zhang y cols., 2001; Lamba y cols., 2005).

En el caso del gen *NR1I3*, los polimorfismos que hemos decidido investigar, también han sido tres; el rs4073054 (IVS8+116T>G), rs2307424 (Ex5-9C>T) y el rs2502815 (IVS3-99C>T) identificados en nuestro estudio como SNP1, SNP2 y SNP3, respectivamente (**Tabla 3.4**). Sin embargo, en este caso los hemos seleccionado de entre los tagSNPs ("*tagging*" SNPs) con capacidad de representar la máxima variabilidad genética y que puedan ser analizados con la técnica de genotipado TaqMan®. La razón principal fue la ausencia de polimorfismos con repercusión funcional descritos en población caucasiana (Lamba, 2008b). Hasta la fecha los dos únicos polimorfismos asociados *in vitro* con un descenso en la transactivación mediada por CAR son el c.737A>G (p.H246R) y c.923T>C (p.L308P) descritos sólo en japoneses y con frecuencias alélicas muy bajas (0.30% y 0.15%, respectivamente) (Ikeda y cols., 2005).

El último gen que hemos decidido investigar no se engloba en ninguno de los tres grupos anteriores ya que es el *GNB3* que codifica la subunidad β 3 de las proteínas G. Las proteínas G son una gran familia de proteínas heterotriméricas (formadas por las subunidades α , β y γ) con actividad GTPasa (hidrolizan guanósín trifosfato (GTP) a guanósín difosfato (GDP), de ahí su nombre) que están presentes en todas las células del cuerpo humano (Wettschureck y cols., 2005; Smrcka y cols., 2008).

Su función consiste en actuar de transductores de señales entre los receptores celulares de 7 dominios transmembrana, acoplados a ellas, y una plétora de efectores, como la adenilil ciclasa, la fosfolipasa C o la fosfatidil-inositol 3 kinasa entre otros, que a través de segundos mensajeros modulan la respuesta celular (McIntire, 2009). En estado de reposo el GDP está unido a la subunidad α y esta a su vez está en contacto con el monómero funcional $\beta\gamma$. La activación del receptor acoplado a las proteínas G en presencia de un ligando induce un cambio conformacional que hace que GTP desplace al GDP de su unión con la subunidad α con lo que comienza la fase de activación. (Cabrera-Vera y cols., 2003; Dupre y cols., 2009). Subsecuentemente se produce la disociación de la subunidad α y el monómero funcional $\beta\gamma$ que interactúan con los efectores correspondientes. La fase de activación termina con la hidrólisis del GTP a GDP por la actividad GTPasa de la subunidad α con lo que se alcanza el estado de reposo (Marrari y cols., 2007). En el genoma humano se han identificado 33 genes encargados de codificar las distintas subunidades de las proteínas G (16, 5 y 12 genes para las subunidades α , β y γ , respectivamente) que dan lugar a 42 isoformas distintas (23, 7 y 12 en el caso de las subunidades α , β y γ , respectivamente) (McIntire, 2009). El potencial de las amplias combinaciones de heterotetrámeros, aunque no se den todas las combinaciones posibles, junto con la existencia de cientos de receptores acoplados a proteínas G (se estima que ocupan entre el 1 y el 2% del genoma), da cierta idea de su papel clave en la transducción de señales (McIntire, 2009).

Las subunidades β pertenecen a la familia de proteínas WD40 caracterizadas por la presencia de dominios repetidos de entre 27 y 45 aminoácidos que en su parte C-terminal contienen la secuencia dipeptídica Trp-Asp (WD). Estos dominios hacen que adopten una estructura tridimensional en forma de hélice que en el caso de la subunidad $\beta 3$ forma una hélice de 7 palas (Gautam y cols., 1998; Siffert, 2000).

El gen *GNB3* tiene una expresión ubicua y en su secuencia se han identificado varios polimorfismos. El polimorfismo que hemos decidido investigar es el rs5443 (Ex10-92C>T, p.S275S), conocido también como el c.825C>T, e identificado en nuestro estudio como SNP11 (**Tabla 3.4**). Este polimorfismo se localiza en el exón 10 y se ha asociado a una variante de *splicing* alternativo más corta, denominada G $\beta 3$ -s, en la que se han perdido 123 nucleótidos del exón 9 y que codifica a una subunidad $\beta 3$ 41 aminoácidos más corta. Los aminoácidos perdidos se localizan en las mitades distal y proximal de las palas 3 y 4, respectivamente, por lo que su estructura tridimensional pasa de ser una hélice con 7 palas a ser una hélice con 6 (Siffert, 2000). En un principio no estaba claro cómo un polimorfismo en el exón 10

puede desencadenar un *splicing* alternativo del exón 9 pero posteriormente se vio que el c.825C>T se encontraba en estrecho desequilibrio de ligamiento con otros polimorfismos entre los cuales podría estar el responsable del *splicing* alternativo del exón 9. Estudios posteriores han encontrado que c.825C>T en ocasiones está asociado a la existencia de otra variante de *splicing* alternativo, denominada G β 3-s2 por su parecido con la anterior (Rosskopf y cols., 2003). Sin embargo, en este caso el *splicing* alternativo se produce a nivel del exón 10 con la pérdida de 129 nucleótidos de modo que su estructura tridimensional, al igual que en el caso anterior, pasa de ser una hélice con 7 palas a ser una hélice con 6, por la pérdida de 43 aminoácidos de parte de las palas 5 y 6 (Rosskopf y cols., 2003). Los estudios realizados *in vitro* y *ex vivo* en humanos demuestran que el alelo 825T y/o los polimorfismos ligados a él facilitan la generación de variantes de *splicing* alternativo que poseen una actividad biológica aumentada que en última instancia se traduce en un incremento de la transducción de señales mediada por las proteínas G (Siffert, 2005).

Las proteínas G juegan un papel clave en la transducción de señales intracelulares por lo que no es de extrañar que el polimorfismo c.825C>T tenga un impacto en varios procesos patológicos y en la respuesta a diversos fármacos. En varios estudios realizados en caucasianos el alelo c.825T ha demostrado estar asociado a un elevado riesgo de padecer obesidad (Siffert y cols., 1999a; Siffert y cols., 1999b; Gutersohn y cols., 2000), hipertensión esencial (Schunkert y cols., 1998; Hengstenberg y cols., 2001), cardiopatía isquémica (Naber y cols., 2000; von Beckerath y cols., 2003), ictus (Morrison y cols., 2001; Wascher y cols., 2003), depresión (Zill y cols., 2000; Bondy y cols., 2002), hipotensión ortostática (Tabara y cols., 2002),

El alelo c.825T se ha asociado, también, a la respuesta a diuréticos tiazídicos (Turner y cols., 2001), antidepresivos (Zill y cols., 2000), sildenafil (Sperling y cols., 2003), clonidina (Nürnberg y cols., 2003), antagonistas de los receptores de angiotensina II (Mitchell y cols., 2006), a los triptanes (Schurks y cols., 2007), a la toxicidad por olanzapina (Ujike y cols., 2008), y clozapina (Kohlrausch y cols., 2008), a la respuesta a sibutramina (Hsiao y cols., 2009), a la respuesta a la vacuna contra el virus de la hepatitis B (Lindemann y cols., 2002), a una mayor proporción de respuestas virológicas sostenidas en los pacientes con hepatitis C tratados con interferón y ribavirina (Sarrazin y cols., 2005; Ahlenstiel y cols., 2007) y a una menor supervivencia del injerto en trasplantados renales (Beige y cols., 1999).

En un estudio recientemente se ha objetivado que los portadores del alelo 825T (CT o TT) tratados con antihipertensivos y que además recibían estatinas como profilaxis secundaria de la cardiopatía isquémica se benefician más del tratamiento hipolipemiante. La reducción absoluta del riesgo de sufrir un segundo infarto de miocardio en los portadores del alelo 825T (CT o TT) tratados con estatinas fue un 21% mayor que en los no portadores (825CC) (Peters y cols., 2008). Sin embargo, esta no ha sido la razón fundamental que nos ha inducido a incluir a este polimorfismo en nuestro estudio, sino su asociación a un elevado riesgo de dispepsia funcional (Tahara y cols., 2008; van Lelyveld y cols., 2008), síndrome del intestino irritable (Andersen y cols., 2006; Adam y cols., 2007; Saito y cols., 2007; Camilleri y cols., 2008) o reflujo gastroesofágico (de Vries y cols., 2009), patologías asociadas a alteraciones en el tránsito gastrointestinal con potencial repercusión en la absorción de fármacos.

La colecistoquinina (CCK) es un neuropéptido producido por las células neuroendocrinas del duodeno en respuesta a la presencia en él de aminoácidos y de ácidos grasos (Dufresne y cols., 2006). Su función es retrasar el vaciado gástrico (Beglinger, 1994), inhibir la secreción gástrica y estimular el vaciado de la vesícula biliar y la liberación de enzimas pancreáticas (Rehfeld, 2004). Participa junto con la gastrina y la secretina en la regulación endocrina de la digestión y juega un papel importante en la motilidad del tracto gastrointestinal superior. Las evidencias actuales la involucran en la fisiopatología de la dispepsia funcional o el síndrome del intestino irritable. Se cree que en estos trastornos existe una hipersensibilidad visceral en el tracto gastrointestinal a la acción de la CCK (van Lelyveld y cols., 2008). La CCK ejerce sus acciones a nivel intestinal a través de su unión a los receptores de CCK tipo 1 (CCK-1) acoplados a proteínas G (Dufresne y cols., 2006), por lo que la misma cantidad de CCK produciría unos efectos "exagerados" en los portadores del alelo 825T (CT o TT) respecto a los no portadores (CC) como consecuencia del incremento de la transducción de señales mediada por las proteínas G. Los portadores del alelo 825T tendrían un vaciado gástrico más lento y una menor secreción gástrica que sin duda podrían tener una repercusión en la disolución y absorción de los fármacos que alteraría su perfil farmacocinético.

Tabla 3.4. Genes y sus polimorfismos investigados en el estudio farmacogenético.

Gen ^a	Número de SNP	Número RS (dbSNP) ^b	Alelos	Posición genómica	Posición génica	Cambio a.a.	Efecto funcional ^c
NR1I3	SNP1	rs4073054	T>G	Chr1:159.467.111	IVS8+116	-	desconocido
	SNP2	rs2307424	C>T	Chr1:159.469.229	Ex5-9	p.P180P	desconocido
	SNP3	rs2502815	C>T	Chr1:159.469.851	IVS3-99	-	desconocido
NR1I2	SNP4	rs3814055	C>T	Chr3:120.982.725	Ex1+705	-	↑ transactivación
	SNP5	rs3814057	A>C	Chr3:121.019.944	Ex10-79	-	↓ transactivación
	SNP6	rs3814058	T>C	Chr3:121.019.981	Ex10-42	-	↓ transactivación
ABCB1	SNP7	rs2235048	C>T	Chr7:86.976.447	IVS27+80	-	↓ actividad
	SNP8	rs1045642	C>T	Chr7:86.976.581	Ex27-55	p.I1145I	↓ actividad
PON3	SNP9	rs10487132	A>G	Chr7:94.858.241	IVS2-784	-	↓ actividad
CYP3A5	SNP10	rs776746	A>G (*1>*3)	Chr7:99.108.475	IVS3-237	-	↓↓ actividad
CYP3A4	SNP16	rs28371759	T>C (*1>*18)	Chr7:99.199.562	Ex10+13	p.L293P	↑ actividad
	SNP17	rs4987161	T>C (*1>*17)	Chr7:99.204.017	Ex7+45	p.F189S	↓ actividad
GNB3	SNP11	rs5443	C>T	Chr12:6.825.136	Ex10-92	p.S275S	↑ transducción de señales
SLCO1B1	SNP12	rs2306283	A>G (*1>*1b)	Chr12:21.221.005	Ex5+29	p.N130D	↑ actividad
	SNP13	rs4149056	T>C (*1>*5)	Chr12:21.222.816	Ex6+40	p.V174A	↓ actividad
CYP1A2	SNP14	rs762551	C>A (*1A>*1F)	Chr15:72.828.970	IVS1-154	-	↑ inducibilidad
CES2	SNP15	rs2241409	C>T	Chr16:65.534.595	IVS10-108	-	↓ actividad

^a Símbolo oficial del nombre del gen según el HGNC [HUGO (The Human Genome Organization) Gene Nomenclature Committee]

(<http://www.genenames.org>)

^b Número único de identificación de la secuencia de referencia de un polimorfismo (reference SNP sequence) indexado en la base de datos de polimorfismos (dbSNP build 129) del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>)

^c Modificación causada por el polimorfismo de la función fisiológica que realiza la proteína codificada por el gen determinado.

3.2.2.- Obtención de las muestras para el análisis genotípico

De cada uno de los voluntarios que dieron su consentimiento por escrito para participar en el estudio genotípico se obtuvo, a través de la vía venosa periférica canalizada para la obtención de las muestras de sangre para cinética y coincidiendo con una de estas extracciones, una muestra de sangre venosa de unos 9 ml repartida en tres tubos de vacío de polipropileno transparente (*Vacutainer*[®]) estériles de 3 ml que contenían ácido etilen-diamino-tetra-acético (EDTA) dipotásico como anticoagulante. Tras su obtención las muestras de sangre fueron convenientemente rotuladas con el número de voluntario y el código del ensayo. Las que iban a ser procesadas para la extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico antes de 4 días fueron conservadas a 4°C y el resto se conservaron hasta su procesamiento a -80°C.

El protocolo para el estudio farmacogenéticos fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en la Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitario La Paz de Madrid.

3.2.3.- Extracción del ADN genómico

Para la extracción del ADN genómico de las muestras de sangre total recogidas para genotipado se utilizaron dos métodos diferentes.

En el primero de ellos, el volumen de partida fue de 2 ml de sangre total fresca (conservada hasta un máximo de 4 días a 4°C) o congelada (conservada a -80°C). Antes de su procesamiento las muestras congeladas fueron descongeladas en un baño termostatzado a una temperatura de 37°C durante unos 10 minutos. El ADN genómico fue aislado y purificado siguiendo el protocolo del *Puregene® DNA isolation kit* (GENTRA Systems, Inc., Minneapolis, Minn., USA).

En el segundo protocolo, con el que se analizaron el 50% de las muestras, el volumen de partida fue de 200 µl de sangre total congelada (conservada a -80°C). Al igual que en el caso anterior fueron descongeladas en un baño termostatzado a una temperatura de 37°C durante unos 10 minutos. Para el aislamiento y purificación del ADN genómico se utilizó el *QuickGene DNA Whole Blood Kit S®* para el sistema semiautomático de extracción de ácidos nucleicos *QuickGene-810®* (FUJIFILM Corporation, Tokio, Japan) con un volumen final de elución de 100 µl.

3.2.4.- Técnica de genotipado

Para el análisis de los 17 polimorfismos incluidos en el estudio farmacogenético se utilizaron los test TaqMan® de discriminación alélica (*TaqMan® SNP Genotyping Assays*) comercializados para PCR en tiempo real (RT-PCR) que utilizan la tecnología TaqMan® (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

En la **Tabla 3.5** se especifican los códigos de identificación de los ensayos TaqMan® de discriminación alélica (*TaqMan® SNP Genotyping Assays*) correspondientes utilizados en el proceso de genotipado de cada uno de los polimorfismos analizados.

Tabla 3.5. Códigos de identificación de los ensayos TaqMan® utilizados para el genotipado de los 17 SNPs.

Gen ^a	Número de SNP	Número RS (dbSNP) ^b	Alelos	AB Assay ID ^c
NR1I3	SNP1	rs4073054	T>G	C__25741543_10
	SNP2	rs2307424	C>T	C__25746794_20
	SNP3	rs2502815	C>T	C__16248625_10
NR1I2	SNP4	rs3814055	C>T	C__27504984_30
	SNP5	rs3814057	A>C	C__11231739_10
	SNP6	rs3814058	T>C	C__11231740_10
ABCB1	SNP7	rs2235048	C>T	C__16179215_10
	SNP8	rs1045642	C>T	C__7586657_1_
PON3	SNP9	rs10487132	A>G	C__2630127_10
CYP3A5	SNP10	rs776746	A>G (*1>*3)	C__26201809_30
CYP3A4	SNP16	rs28371759	T>C (*1>*18)	C__27859823_20
	SNP17	rs4987161	T>C (*1>*17)	C__27859822_10
GNB3	SNP11	rs5443	C>T	C__2184734_10
SLCO1B1	SNP12	rs2306283	A>G (*1>*1b)	C__1901697_20
	SNP13	rs4149056	T>C (*1>*5)	C__30633906_10
CYP1A2	SNP14	rs762551	C>A (*1A>*1F)	C__8881221_10
CES2	SNP15	rs2241409	C>T	C__8729601_1_

^a Símbolo oficial del nombre del gen según el HGNC [HUGO (The Human Genome Organization) Gene Nomenclature Committee] (<http://www.genenames.org>)

^b Número único de identificación de la secuencia de referencia de un polimorfismo (reference SNP sequence) indexado en la base de datos de polimorfismos (dbSNP build 129) del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>)

^c Código de identificación de producto Applied Biosystems (<https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/adirect/ab?cmd=ABGKeywordSearch&catID=601283>)

En el proceso de genotipado con tecnología TaqMan® se pueden distinguir tres fases (**Figura 3.1**): la pre-PCR que consiste en la preparación de las muestras de ADN en placas de 384 pocillos, la RT-PCR, propiamente dicha, en la que se lleva a cabo la amplificación del fragmento de ADN específico y la lectura en tiempo real de la fluorescencia, y por último, la fase post-PCR en la que se realiza el procesamiento de la imagen del escáner y la asignación alélica y genotípica.

El ADN genómico (2.25 µl disuelto en H₂O estéril grado PCR a una concentración de 5.56 ng/ml) de cada uno de los 207 voluntarios fue depositado junto con 2.50 µl de

Master Mix y 0.25 μl (20x) de *SNP Genotyping Mix* en la placa de 384 pocillos obteniendo un volumen final de 5 μl y 2.5 ng de ADN por pocillo.

Las dos siguientes fases del proceso de genotipado se realizaron en el Servicio de Secuenciación y Síntesis de ADN del Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" (CSIC-UAM) con un equipo *Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

En la técnica de genotipado por tecnología TaqMan[®] se utilizan dos cebadores o iniciadores ("*primers*") y dos sondas. Con los cebadores se amplifica de forma específica el fragmento de ADN de unos 160 nucleótidos (nt), denominado amplicón, en el que se encuentra el polimorfismo de nucleótido único (SNP) que se desea genotipar. Las dos sondas TaqMan[®] (FAM y VIC) de entre 12 y 15 nt de longitud, están diseñadas para contener la secuencia complementaria correspondiente a cada uno de los alélos del SNP (**Figura 3.2A**). Cada una tiene, unidos de forma covalente, un *quencher* con un *Minor Groove Binder* (MGB) en su extremo 3' para facilitar su unión al ADN, y una molécula fluorescente en su extremo 5'. En la sonda FAM se utiliza el fluoróforo FAM[™] (éster amino reactivo de succinimidilo de 6-carboxifluorosceína (6-FAM)) que emite fluorescencia verde a longitud de onda de 520 nm y en la sonda VIC, el fluoróforo VIC[®]. El otro componente fundamental de la técnica es la *AmpliTaq Gold*[®] ADN polimerasa con actividad 5' exonucleasa.

Durante la fase de hibridación-extensión de la PCR, la sonda se hibrida de forma específica a los amplicones complementarios (**Figura 3.2B**) y la actividad 5' exonucleasa de la *AmpliTaq Gold*[®] ADN polimerasa la degrada (y de ahí su nombre, resultado de la unión entre *Taq* polimerasa y el video juego "*PacMan*" o comecocos, haciendo alusión a su actividad exonucleasa) liberando el fluoróforo lo que resulta en un incremento de la fluorescencia debido a que el *quencher* ya no se encuentra cerca (**Figura 3.2C**). El aumento exponencial del número de amplicones durante la PCR se acompaña del incremento de la fluorescencia emitida por la sonda complementaria correspondiente. Este incremento se cuantifica en tiempo real utilizando el escáner del *Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) que realiza lecturas simultáneas a la correspondiente longitud de onda de cada una de las sondas.

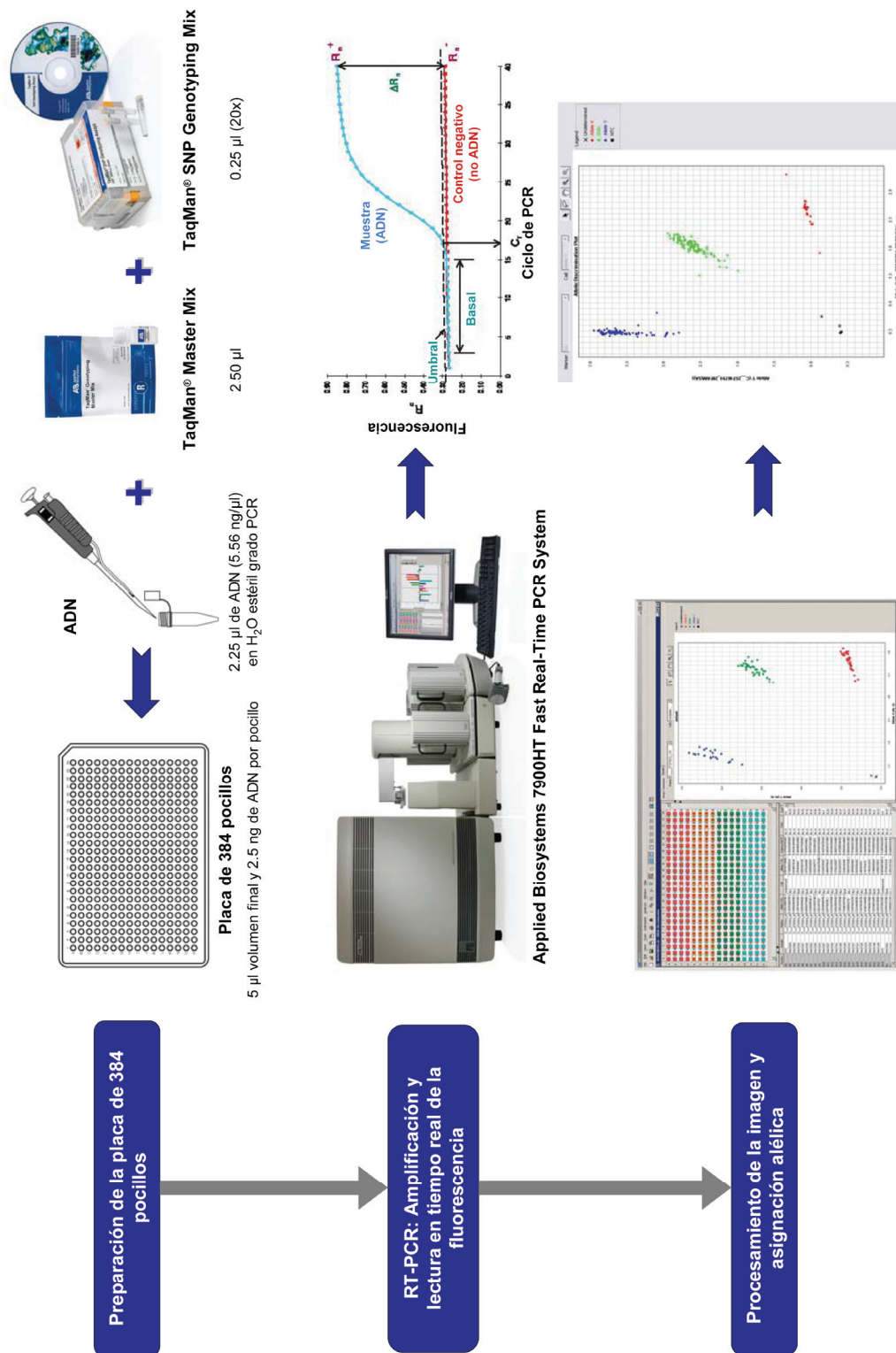


Figura 3.1. Las tres fases en el proceso de genotipado con tecnología TaqMan®.

Los detalles del proceso de genotipado de un SNP en el que una citosina cambia a timina (C>T) de un portador homocigoto "CC", heterocigoto "CT" y homocigoto "TT" se describen de forma esquemática en las **Figuras 3.2, 3.3 y 3.4**, respectivamente. En el portador homocigoto CC las sondas FAM hibridarán perfectamente y su fluoróforo será liberado por la actividad 5' exonucleasa de la ADN polimerasa y emitirá fluorescencia mientras que la sonda VIC, al no haber hibridado de forma perfecta, y por tanto con menor fuerza, será desplazada de su unión sin ser degradada por la polimerasa evitándose así la emisión de fluorescencia de su fluoróforo (**Figura 3.2C**). En el caso de un portador heterocigoto ambas sondas hibridarán perfectamente, serán degradadas y se emitirá fluorescencia por sendos fluoróforos (**Figura 3.3C**). En el portador homocigoto "TT" emitirán fluorescencia solo las sondas VIC (**Figura 3.4C**).

El paso final en el proceso de genotipado es la obtención de las gráficas de discriminación alélica en las cuales se representan en el eje x e y las intensidades relativas de fluorescencia de las sondas VIC y FAM, respectivamente. En la **Figura 3.5** se reproduce, a modo de ejemplo real, la gráfica de discriminación alélicas del SNP2 (rs2307424 C>T) en los 207 individuos del estudio. La nube de puntos azules, verdes y rojos representa a los sujetos con genotipos "CC", "CT" y "TT", respectivamente. En el genotipado de todos los SNPs se utilizaron como controles negativos dos muestras en las que no se añadió ADN (*NTC* o *no-template control*).

La tecnología TaqMan® fue elegida al resultar óptima para estudios que requieren el análisis de muchas muestras para el genotipado de unos pocos SNPs, como es el caso de nuestro estudio, ya que si bien permite el análisis de un gran volumen de muestras, no es posible el análisis simultáneo de varios SNPs. Además al tratarse de una técnica de genotipado fiable y validada no fue necesaria la confirmación por otras técnicas de los resultados obtenidos.

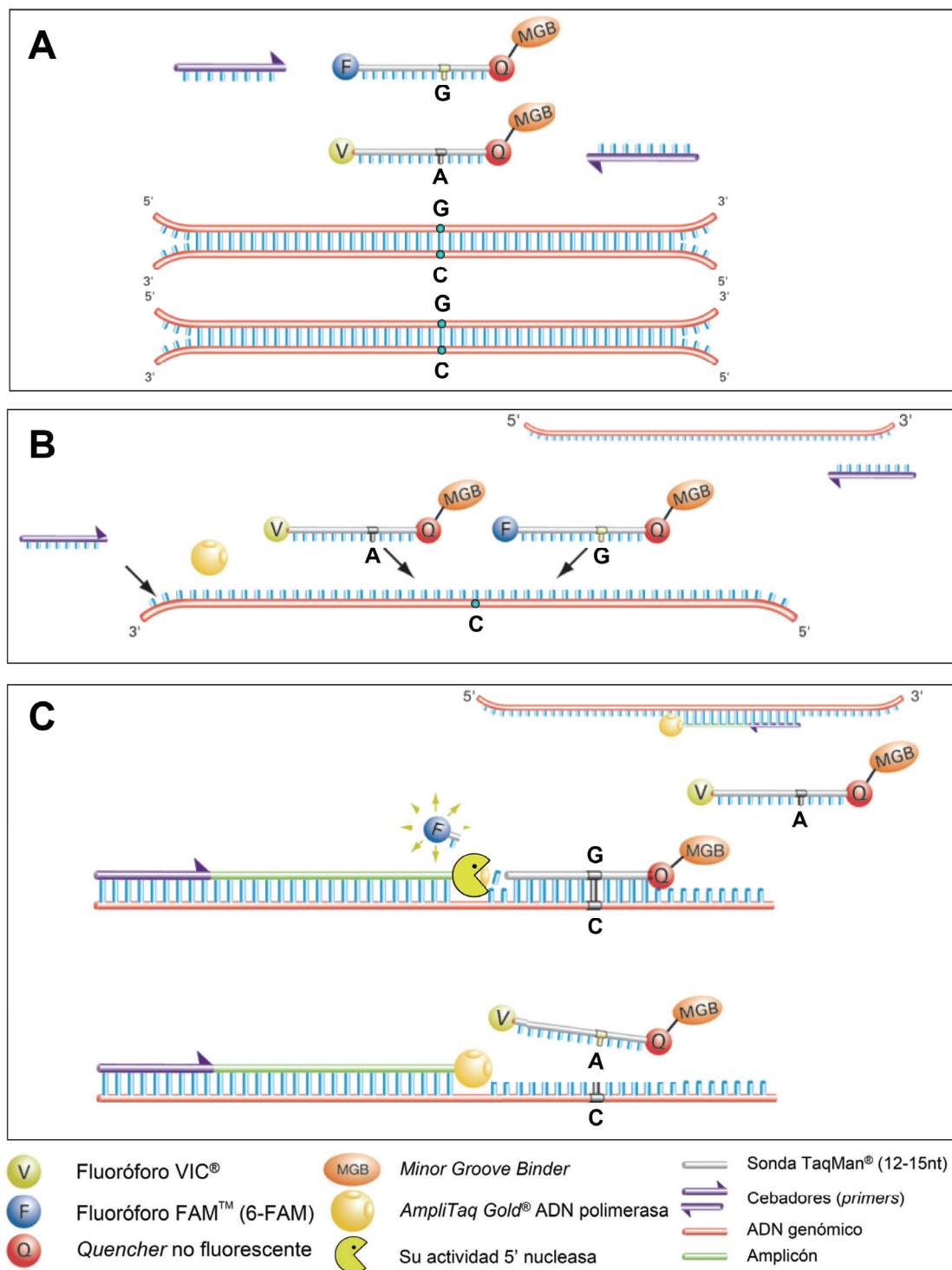


Figura 3.2. Representación esquemática del proceso de genotipado de un portador homocigoto "CC" de un SNP C>T. **A**, componentes de la técnica; **B**, fase de hibridación de la PCR; **C**, fase de elongación y degradación o desplazamiento de la sonda por la ADN polimerasa en función de su grado de hibridación.

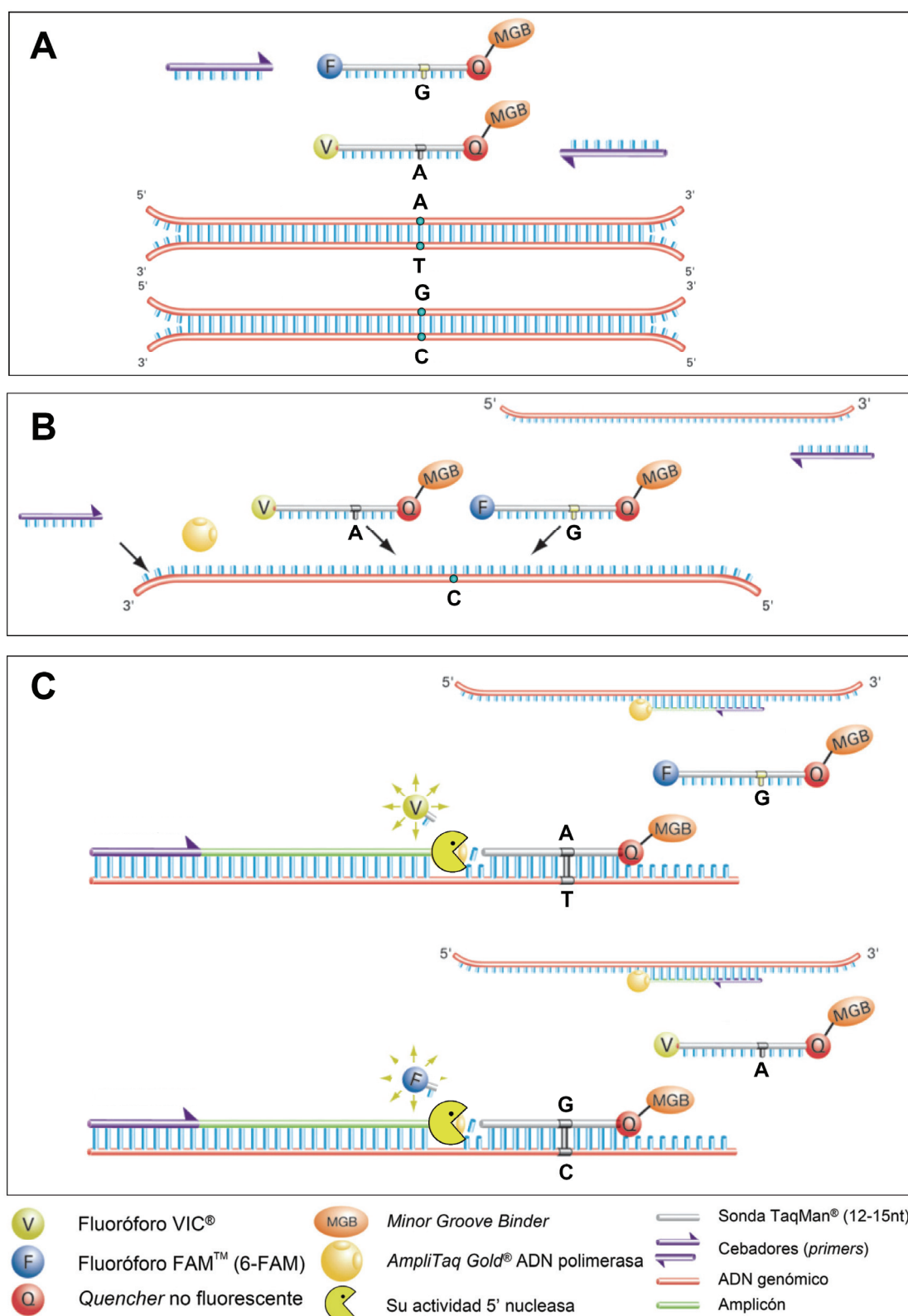


Figura 3.3. Representación esquemática del proceso de genotipado de un portador heterocigoto "CT" de un SNP C>T. **A**, componentes de la técnica; **B**, fase de hibridación de la PCR; **C**, fase de elongación y degradación o desplazamiento de la sonda por la ADN polimerasa en función de su grado de hibridación.

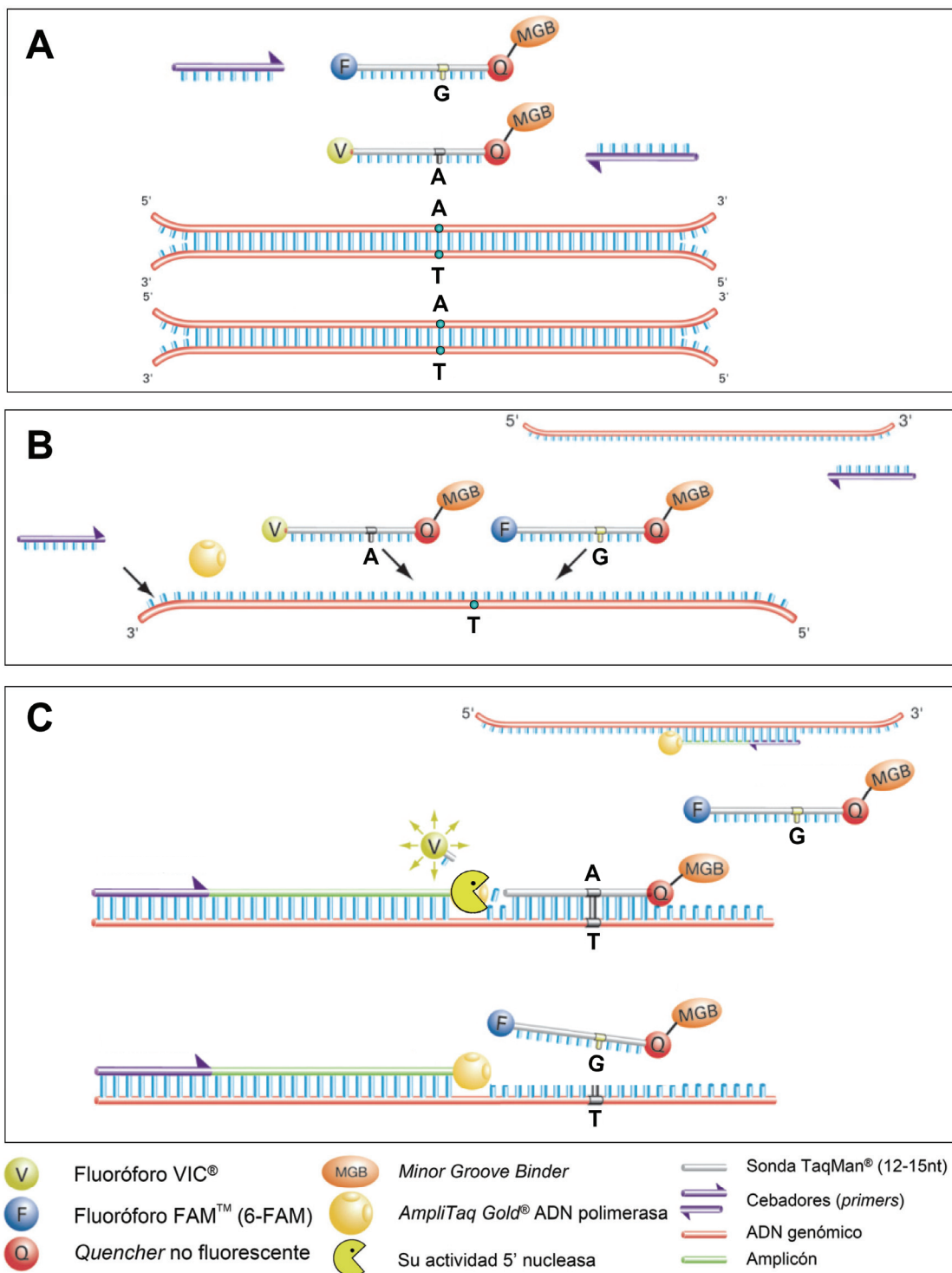


Figura 3.4. Representación esquemática del proceso de genotipado de un portador homocigoto "TT" de un SNP C>T. **A**, componentes de la técnica; **B**, fase de hibridación de la PCR; **C**, fase de elongación y degradación o desplazamiento de la sonda por la ADN polimerasa en función de su grado de hibridación.

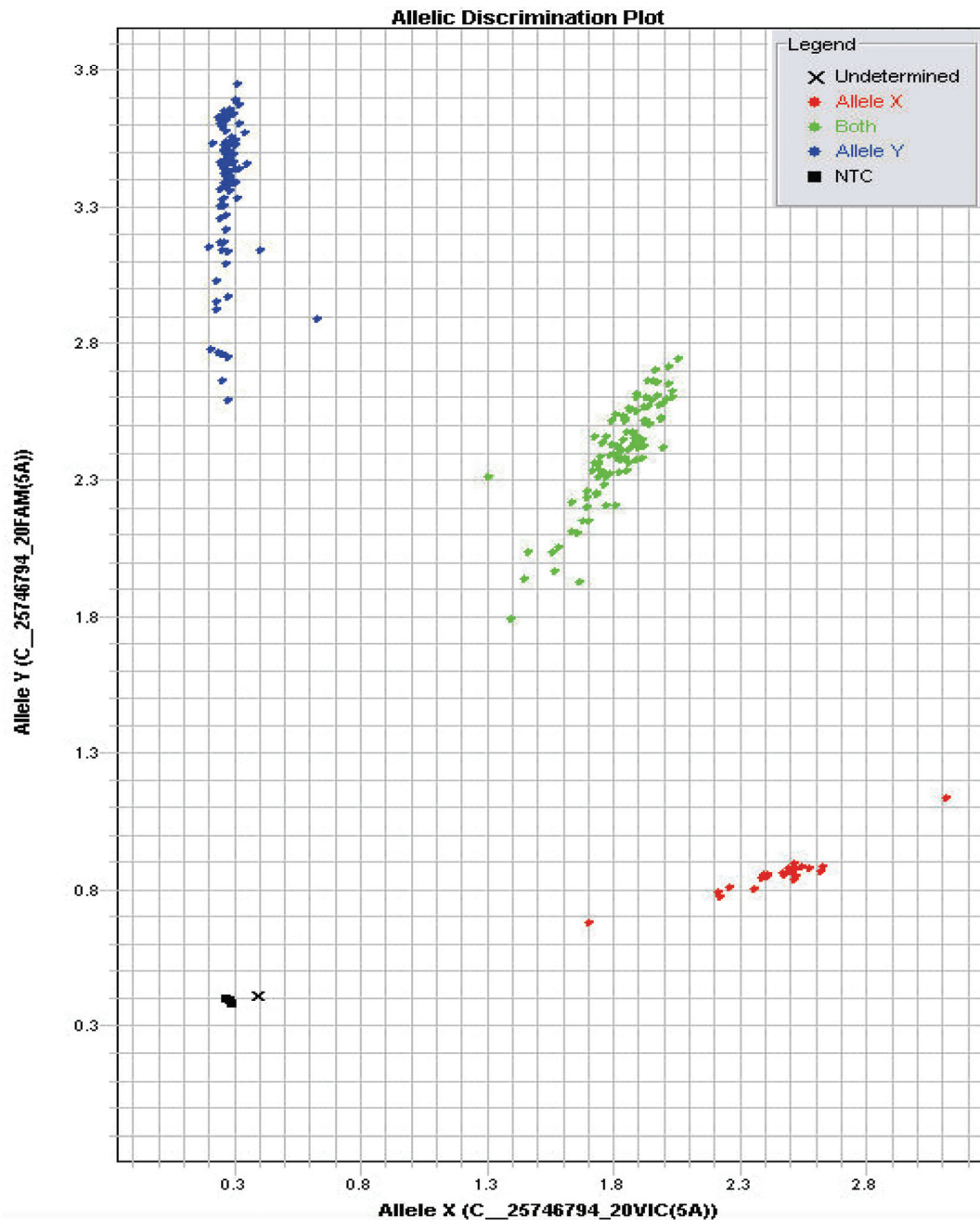


Figura 3.5. Gráfica de discriminación alélica del SNP2 (rs2307424, C>T).

En el eje x e y se representan las intensidades relativas de fluorescencia de las sondas VIC (alelo T) y FAM (alelo C), respectivamente. La nube de puntos azules, verdes y rojos representa a los sujetos con genotipos "CC", "CT" y "TT", respectivamente. La "x" representa al único individuo de los 207 con genotipo indeterminado y los dos cuadrados negros a los dos controles negativos (NTC = *no-template control*).

3.3.- Análisis cinético

3.3.1.- Criterios de selección de los ensayos de bioequivalencia incluidos en el análisis

Los datos farmacocinéticos se obtuvieron de cinco ensayos clínicos de bioequivalencia con estatinas (lovastatina, simvastatina o pravastatina) que hasta el año 2006 se habían llevado a cabo en la Unidad de Ensayos Clínicos del Centro de Farmacología Clínica (CFC) del Departamento de Farmacología y Terapéutica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) (véase: **Tabla 3.1**). Además, se seleccionaron otros dos ensayos clínicos de bioequivalencia con fármacos sin efecto hipolipemiante, uno con loperamida (87-LOP) y el otro mirtazapina (105-MIR), para la descripción de la frecuencia alélica y genotípica de los 17 polimorfismos investigados en la población de voluntarios sanos del CFC y para servir de control negativo en la evaluación del efecto farmacodinámico sobre los triglicéridos y el colesterol total de las estatinas.

Los siete ensayos clínicos incluidos en el presente trabajo se desarrollaron de acuerdo a la Declaración de Helsinki y sus sucesivas revisiones, y a la legislación española vigente en materia de ensayos clínicos en seres humanos. El protocolo de los ensayos, al igual que el del estudio farmacogenético, fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en la Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitario La Paz de Madrid.

3.3.2.- Diseño de los estudios de bioequivalencia

Los siete ensayos clínicos de bioequivalencia incluidos en el estudio fueron diseñados de forma cruzada, controlados con tratamiento activo, con asignación aleatoria de los dos tratamientos, abiertos y unicéntricos.

En cada uno de ellos participaron treinta y seis voluntarios sanos, varones y mujeres no fumadores. Los voluntarios participantes dieron su consentimiento por escrito antes de comenzar los procedimientos previstos para su inclusión en cada uno de los estudios y fueron informados de su derecho de abandonar el estudio en cualquier momento.

En la **Tabla 3.6** se detalla el calendario de los procedimientos comunes de los 7 ensayos clínicos incluidos en el presente estudio.

Tabla 3.6. Procedimientos comunes a los 7 ensayos clínicos.				
Todos los EC	Reclutamiento	Ingreso		Control
Día del ensayo	-15 - 0	1	8	15
Criterios de selección	✓			
Historia clínica	✓			✓
Exploración física	✓	✓	✓	✓
T.A. y FC	✓	✓	✓	✓
ECG	✓			
Determinaciones de laboratorio*	✓			✓
Administración del fármaco		✓	✓	
Ingreso en la Unidad de Ensayos		✓	✓	
Muestras sangre (Farmacocinética)		✓	✓	
Evaluación efectos adversos		✓	✓	✓
Obtención consentimiento informado	✓			

* Hemograma y bioquímica (colesterol total y triglicéridos) en ayunas; T.A., tensión arterial; FC, frecuencia cardíaca. (véase: **Figura 1.24**)

En todos, el tiempo de lavado entre ambos periodos de tratamiento fue de una semana (véase: **Figura 1.24**, pág. 118) y la fase de reclutamiento se prolongó hasta los 15 días previos al primer ingreso. En cada periodo, coincidiendo con el día de ingreso en la Unidad de Ensayos, se administró por vía oral una dosis única del fármaco de estudio (en su formulación ya comercializada o de referencia, o de la que se quiere demostrar su bioequivalencia o test) y se midieron las concentraciones plasmáticas del mismo a distintos tiempos hasta determinado número de horas después de su administración. A las dos semanas de la segunda administración del fármaco de estudio se llevó a cabo la fase de control.

En los cinco ensayos con estatinas la dosis administrada fue de 40 mg. En la **Tabla 3.1** se detallan las dosis y las formulaciones de referencia de los siete ensayos clínicos. Los comprimidos se administraron con 200 ml de agua. Con el fin de intentar disminuir en lo posible la variabilidad ínter e intraindividual en la absorción del fármaco se establecieron restricciones en la dieta de los voluntarios, prohibiéndoseles el consumo de bebidas alcohólicas y de café, té, chocolate y refrescos de cola, desde los dos días previos a la toma de la medicación y hasta la última extracción. Por la misma razón, la dieta durante el ingreso fue la misma para todos los voluntarios. Así mismo, la alimentación durante los días de ingreso entre los distintos ensayos fue similar en cuanto al aporte lipídico y calórico.

Los participantes mantuvieron el ayuno desde las ocho horas previas y hasta la hora de la comida del día de ingreso. La comida se sirvió a las cinco horas de la administración del fármaco; constó de primer plato de pastas o verdura; segundo

plato de carne (filete con patatas); y postre: fruta o yogur. La merienda (un bocadillo de jamón y queso, sin zumo) se administró a las 9 horas de la toma de la medicación. La cena (un bocadillo o sándwich) se administró a las 13 horas de la toma de la medicación.

La ingesta de líquidos se restringió hasta la hora de la comida permitiéndose solo los 200 ml de agua coincidiendo con la toma de la medicación. La actividad física se restringió al mínimo imprescindible, manteniéndose el reposo en cama en decúbito supino durante las cinco horas posteriores a la administración de la medicación. No se permitió la actividad física intensa durante el desarrollo del estudio.

En cada periodo de tratamiento de los ensayos los voluntarios ingresaron secuencialmente en la Unidad de Ensayos en grupos de 12 individuos y se les canalizó una vía venosa periférica de la que se extrajeron las muestras de sangre para farmacocinética en tubos de propileno con 30 µl de heparina sódica al 5% inmediatamente antes y a distintos tiempos de la administración de la medicación, según las características cinéticas de la formulación de estudio. En la **Tabla 3.7** se detalla el plan general de extracciones de sangre de los ensayos de bioequivalencia incluidos en el estudio farmacogenético. El volumen de cada una de las muestras de sangre total fue de 10 ml. La fracción plasmática de las muestras se obtuvo tras su centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente. El plasma obtenido se separó en dos alícuotas de aproximadamente 2.5 ml que se transvasaron a tubos de polipropileno traslúcido, y se guardaron congelados a -80°C hasta el momento de su envío al laboratorio de referencia establecido en el protocolo del estudio para la cuantificación del fármaco en estudio.

3.3.3.- Método analítico

La determinación de las concentraciones plasmáticas se realizó utilizando un método analítico de cromatografía líquida de alta precisión con detección por espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS) previamente validado que reunía las condiciones de precisión (sensibilidad y especificidad) y reproducibilidad (coeficientes de variación inter e intradía) adecuadas para garantizar la fiabilidad de los resultados.

La determinación de las concentraciones plasmáticas se realizó de forma ciega enviando las muestras al laboratorio de análisis etiquetadas con un número clave, de asignación aleatoria, sólo conocido por los investigadores de la Unidad de Ensayos Clínicos. Este procedimiento fue seguido en los ensayos cuyas

concentraciones plasmáticas fueron analizadas en el Departamento de I+D de laboratorios Normon, S.A. (ensayos 78-LOV, 84-SIM y 91-PRA), mientras que los ensayos cuyas determinaciones fueron realizadas por MCC Analítica, S.A. (Barcelona), desde 2004 SFBC Anapharm Europe (Barcelona), el análisis se realizó de forma ciega sólo para la formulación pero no para el número de voluntario, periodo, ni los tiempos de extracción (ensayos 73-LOV y 92-LOV).

Tabla 3.7. Plan general de extracciones de los 5 ensayos de bioequivalencia con estatinas.

Extracciones	Ensayos de Bioequivalencia				
	73-LOV	78-LOV	84-SIM	91-PRA	92-LOV
Basal	✓	✓	✓	✓	✓
Medicación	40 mg	40 mg	40 mg	40 mg	40 mg
20 min				✓	
30 min	✓	✓	✓		
40 min				✓	
1 h	✓	✓	✓	✓	✓
1 h 20 min				✓	
1 h 30 min			✓		
1 h 40 min				✓	
2 h	✓	✓	✓	✓	✓
2 h 30 min	✓	✓	✓	✓	✓
3 h	✓	✓	✓	✓	✓
3 h 30 min	✓	✓			
4 h	✓	✓	✓	✓	✓
5 h	✓	✓	✓		✓
6 h	✓	✓	✓	✓	✓
7 h			✓		
8 h	✓	✓	✓	✓	✓
10 h			✓	✓	
12 h	✓	✓	✓*	✓	✓
16 h	✓	✓		✓	✓
20 h	✓	✓		✓	✓
24 h	✓*	✓*	✓	✓*	✓*
32 h	✓	✓			✓
48 h	✓	✓		✓	✓
72 h				✓	

* Fin del ingreso en la Unidad de Ensayos Clínicos

En la **Tabla 3.8** se detallan los límites de cuantificación de cada uno de los ensayos de bioequivalencia con las tres estatinas utilizados en el estudio farmacogenético.

Tabla 3.8. Método analítico y límites de cuantificación.

Ensayo	Estatina	Método analítico	Límite de cuantificación (ng/ml)
73-LOV	Lovastatina	HPLC-MS/MS ^a	0.10
	Lov. hidroxiácido	HPLC-MS/MS ^a	0.10
78-LOV	Lovastatina	HPLC-MS/MS ^b	0.10
	Lov. hidroxiácido	HPLC-MS/MS ^b	0.10
92-LOV	Lovastatina	HPLC-MS/MS ^a	0.25
	Lov. hidroxiácido	HPLC-MS/MS ^a	0.25
84-SIM	Simvastatina	HPLC-MS/MS ^b	0.10
	Sim. hidroxiácido	HPLC-MS/MS ^b	0.10
91-PRA	Pravastatina	HPLC-MS/MS ^b	4.00

HPLC-MS/MS: cromatografía líquida de alta precisión con detección por espectrometría de masas en tándem

^a Determinación realizada por el Dpto. de I+D de laboratorios Normon, S.A.

^b Determinación realizada por MCC Analítica, S.A. (Barcelona)

3.3.4.- Análisis farmacocinético

El análisis farmacocinético de los datos obtenidos de los cinco ensayos de bioequivalencia con estatinas (tres con lovastatina, uno con simvastatina y uno con pravastatina) seleccionados se realizó empleando el programa WinNonlin Pro 2.0 (Pharsight Corporation, Cary USA), mediante un modelo no compartimental. Los parámetros de farmacocinéticos de evaluación calculados fueron aquellos que definen las características del comportamiento cinético de las diferentes estatinas, tales como el área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo desde el tiempo cero hasta el último con concentración detectable (AUC_t), y desde el tiempo cero a infinito (AUC_∞), la concentración plasmática máxima alcanzada (C_{max}), el tiempo al que se alcanza la C_{max} (T_{max}), el tiempo de residencia medio (MRT), la vida media de eliminación ($t_{1/2}$), el aclaramiento plasmático aparente (Cl/F) y el volumen de distribución aparente (Vd/F) ajustados a la biodisponibilidad (F).

Los parámetros cinéticos calculados corresponden a las concentraciones plasmáticas obtenidas de cada voluntario tras la administración en cada uno de los ensayos del fármaco en estudio (formulación test) y del fármaco de control (formulación de referencia).

La C_{\max} y el tiempo para alcanzarla (T_{\max}) se obtuvieron directamente a partir de los resultados de las concentraciones plasmáticas mientras que la constante de eliminación (k_e), el AUC_{∞} , la $t_{1/2}$ y el MRT se obtuvieron a partir de los puntos terminales de la curva de las concentraciones frente al tiempo. El aclaramiento aparente (Cl/F) se calculó a partir del cociente Dosis/ AUC_{∞} . Y el volumen de distribución aparente (Vd/F) mediante la fórmula: $Vd/F = Cl/F / k_e$.

El AUC_{∞} se calculó mediante la suma de dos AUC parciales: a) el AUC_t , entre el tiempo cero hasta el último con concentración detectable, calculado mediante la regla trapezoidal, y b) el $AUC_{t-\infty}$, calculado como el cociente C_t/k_e , siendo C_t la última concentración detectable y k_e la pendiente de la recta obtenida mediante regresión lineal a partir de los puntos correspondientes a la fase de eliminación del fármaco. Para determinar el número de puntos utilizados en el cálculo de k_e , el software de análisis cinético utilizado (WinNonlin Pro 2.0) comienza la regresión lineal del logaritmo natural de las concentraciones a partir de los últimos tres puntos detectables, calculando el coeficiente de regresión (R^2) ajustado al número de puntos añadiendo en cada paso un cuarto, un quinto... punto, hasta encontrar un R^2 peor que el inmediatamente anterior, momento en el que estima la pendiente de la recta de eliminación con los puntos que proporcionan el R^2 ajustado óptimo.

Si las determinaciones analíticas perfilan una curva en la que los últimos puntos no permiten el cálculo de la pendiente de regresión al no existir más de dos puntos en línea descendente después de la C_{\max} , WinNonlin Pro 2.0 ofrece datos del AUC hasta el último punto detectable (AUC_t), pero no permite calcular la k_e ni el AUC extrapolado hasta el infinito (AUC_{∞}), el MRT o la $t_{1/2}$. En estas situaciones, en las que pueden aparecer menos de tres puntos después de la C_{\max} o que alguno de ellos pueda estar en fase ascendente, el cálculo de la constante de eliminación se realiza mediante la integración manual de dos o más puntos a partir del último con concentración detectable. Si los últimos puntos tampoco permiten calcular una pendiente de regresión, ni siquiera manualmente, por ejemplo, por ser las últimas concentraciones más altas que las anteriores, el cálculo del área extrapolada se hace imposible.

Esta fue la situación que se dio en aproximadamente el 20% de los voluntarios en los tres ensayos de bioequivalencia con lovastatina (73-LOV, 78-LOV y 92-LOV) y el ensayo con simvastatina (84-SIM). Sin embargo, no tuvimos este problema en ninguno de los voluntarios participantes en el estudio de bioequivalencia con pravastatina (91-PRA). En el **Anexo 1 (Figuras A1.1-A1.5, pág. A2-A4)** se

muestran las gráficas de las concentraciones frente al tiempo de los cinco ensayos de bioequivalencia en los que llama la atención la presencia de segundos picos en los ensayos con lovastatina y simvastatina debidos probablemente a la presencia de recirculación enterohepática.

Para homogeneizar el análisis estadístico y facilitar su interpretación y la comparación entre estatinas decidimos utilizar en el análisis fenotípico los siguientes parámetros farmacocinéticos al ser considerados buenos indicadores de biodisposición:

- Lovastatina y simvastatina:
 - *Lactona*: C_{max} , AUC_t y Cl/F ($Cl/F = \text{Dosis}/AUC_t$); y
 - *Hidroxiácido*: C_{max} , AUC_t y MR ("metabolic ratio" o cociente metabólico calculado mediante la fórmula $MR = AUC_t \text{ hidroxiácido}/AUC_t \text{ lactona}$);
- Pravastatina: C_{max} , AUC_t , Cl/F ($Cl/F = \text{Dosis}/AUC_t$) y $t_{1/2}$.

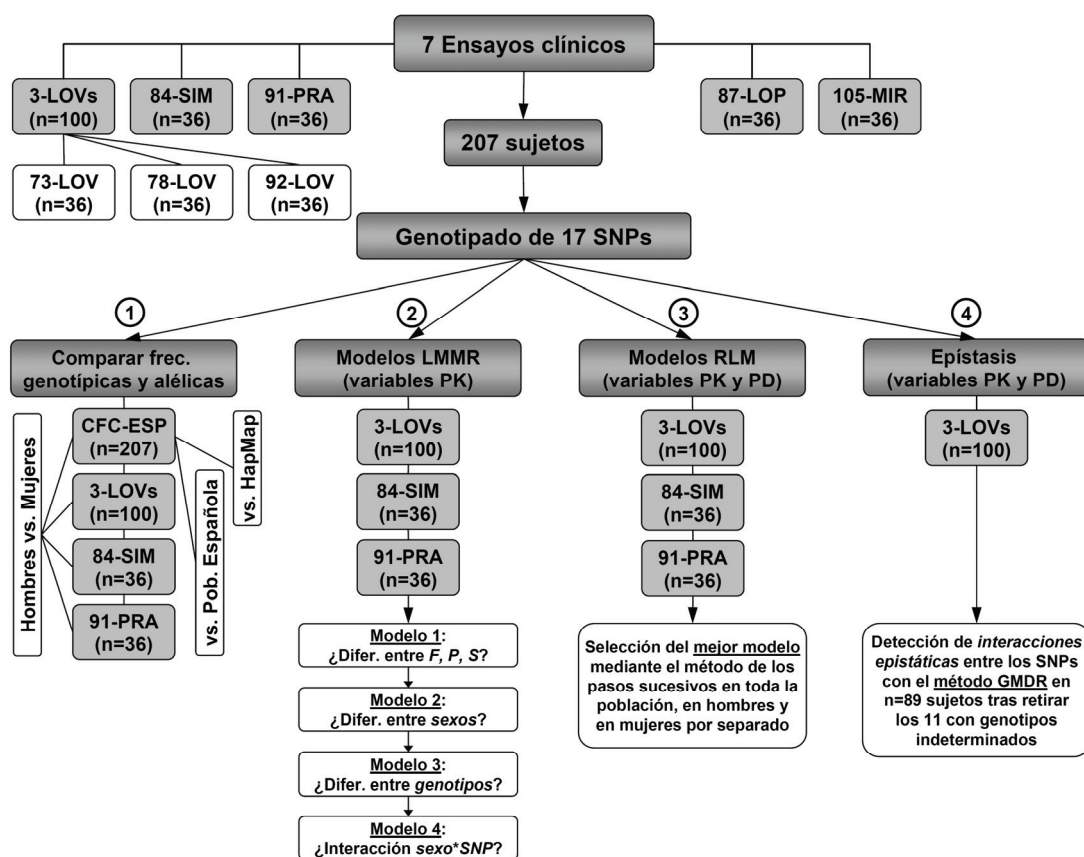


Figura 3.6. Esquema general del análisis estadístico. Para una explicación detallada véase el texto principal.

3.4.- Análisis estadístico

En el análisis estadístico se han utilizado los datos obtenidos en 7 ensayos clínicos de bioequivalencia de los cuales cinco han sido con estatinas (lovastatina, simvastatina y pravastatina) y dos con fármacos sin actividad hipolipemiente conocida como la loperamida y la mirtazapina. En total han sido 207 los voluntarios que han constituido la población de estudio y que han sido genotipados para los 17 SNPs. Para facilitar la comprensión en la **Figura 3.6** se representan de forma esquemática las cuatro partes del análisis estadístico. En cada una de ellas se analiza, en toda o en parte de la población, un aspecto diferente en aras a la consecución de los objetivos del estudio. Las cuatro partes son: 1) cálculo de las frecuencias genotípicas y alélicas de los 17 polimorfismos, 2) análisis de las variables farmacocinéticas (PK) con modelos lineales mixtos de medidas repetidas (LMMR), 3) análisis de las variables farmacocinéticas (PK) y farmacodinámicas (PD) con modelos de regresión lineal múltiple (RLM) y 4) detección de la presencia de interacciones epistáticas entre los polimorfismos mediante el método de la reducción generalizada de la dimensionalidad multifactorial o GMDR (*“Generalized Multifactor Dimensionality Reduction”*).

3.4.1.- Cálculo de las frecuencias alélicas y genotípicas

Sean n_0 , n_1 y n_2 el número de individuos con los genotipos AA , Aa y aa , respectivamente de modo que $n_0 + n_1 + n_2 = N$, siendo N el número total de individuos de la población. Las frecuencias alélicas del alelo silvestre, $p(A)$ y del alelo mutado, $q(a)$, se calcularon con las siguientes fórmulas:

$$p(A) = (2 n_0 + n_1) / 2N$$

$$q(a) = (2 n_2 + n_1) / 2N$$

y las frecuencias genotípicas de los individuos portadores homocigotos del alelo silvestre, $p^2(AA)$, heterocigotos, $2pq(Aa)$, y homocigotos del alelo mutado, $q^2(aa)$, con las fórmulas:

$$p^2(AA) = n_0 / N$$

$$2pq(Aa) = n_1 / N$$

$$q^2(aa) = n_2 / N$$

Con el objetivo de unificar la codificación de los 3 genotipos para todos los polimorfismos hemos utilizado el número de alelos mutados en cada genotipo, de forma que “0”, “1” y “2”, correspondan a los genotipos AA , Aa y aa , respectivamente.

Además se calcularon sus intervalos de confianza al 95% (IC95%) utilizando la siguiente fórmula para el cálculo de IC95% de proporciones con corrección de continuidad (Newcombe, 1998):

$$(A \pm B) / C$$

donde

$$A = 2r + z_{2\alpha}^2$$

$$B = z_{2\alpha} [z_{2\alpha}^2 + 4r(1 - r/n)]^{1/2}$$

$$C = 2 (n + z_{2\alpha}^2)$$

$z_{2\alpha}$, el valor z a dos colas para un $\alpha = 0.05$, es de 1.96 (IC95%); r , es el número de alelos (p.ej. a) o individuos con cierto genotipo (p.ej. aa); y n , el número total de alelos ($2N$) o individuos (N) de la población, respectivamente.

Como control de calidad del genotipado de los polimorfismos estudiados se analizó el cumplimiento del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW), al ser los errores de genotipado la primera causa de desviaciones del mismo. El EHW establece que en una población suficientemente grande, en la que los apareamientos se producen al azar (panmícticos) y que no se encuentra sometida a mutación, selección o migración, las frecuencias alélicas (p y q) y genotípicas (p^2 , $2pq$ y q^2) se mantienen constantes de una generación a otra, una vez alcanzado un estado de equilibrio que en *loci* autosómicos se alcanza tras una generación. Expresado en términos algebraicos el EHW implica que la suma de las frecuencias alélicas ($p + q = 1$) y genotípicas ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$) es igual a uno. La detección de las desviaciones del EHW se realizó mediante la comparación de las frecuencias observadas y esperadas con un test de bondad de ajuste (χ^2 con test exacto de Fisher) utilizando la aplicación *De Finetti program* (disponible en <http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>). La misma aplicación se utilizó para la construcción de los diagramas de De Finetti con las que se representaron de forma gráfica las desviaciones del EHW.

Para comparar las frecuencias alélicas y genotípicas entre las distintas poblaciones [entre la población de estudio (CFC-ESP, $n=207$) y las cuatro poblaciones de HapMap (CEU, caucasianos de origen centroeuropeo; HCB, chinos Han de Beijín; JPT, japoneses de Tokio; YRI, Yorubas de Nigeria) y la distintas poblaciones españolas descritas en la literatura, y entre CFC-ESP y las tres subpoblaciones con las tres estatinas (3-LOVs, $n=100$; 84-SIM, $n=36$; y 91-PRA, $n=36$)] se utilizaron el test exacto de Fisher y el test de tendencia de Armitage, respectivamente, con las correspondientes correcciones de Bonferroni para comparaciones múltiples en los

casos que fueron necesarias. Los mismos test estadísticos se aplicaron para evaluar las posibles diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas entre hombres y mujeres en la población de estudio (CFC-ESP) y las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA).

3.4.2.- Modelos lineales mixtos de medidas repetidas (LMMR)

Los modelos lineales mixtos constituyen una herramienta flexible capaz de analizar variables con estructura jerárquica compleja. Por este motivo, también se suelen denominar modelos a niveles múltiples o jerárquicos.

Si en la estructura de las variables dependientes se pueden reconocer varios niveles, se supone que el agrupamiento de las unidades de medida (individuos) del nivel inferior (dentro de las unidades del nivel superior) puede tenerse en cuenta a través de la consideración de heterogeneidad de las unidades del nivel superior. Es decir, la respuesta se obtiene sobre unidades del nivel más bajo pero la información sobre las covariables puede ser medida a cualquier nivel.

La forma general de la ecuación de un modelo lineal mixto es,

$$\mathbf{Y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\boldsymbol{\gamma} + \boldsymbol{\varepsilon},$$

donde \mathbf{Y} es un vector $n \times 1$ de variables dependientes observables (datos), \mathbf{X} y \mathbf{Z} son matrices de diseño conocidas, $\boldsymbol{\beta}$ es un vector $p \times 1$ de efectos paramétricos asumiendo valores fijos (*efectos fijos*), $\boldsymbol{\gamma}$ es un vector $m \times 1$ de variables aleatorias (*efectos aleatorios*) y $\boldsymbol{\varepsilon}$ es un vector $n \times 1$ de términos de error aleatorios (variabilidad residual no explicada por el modelo); n son el número de unidades de medida (individuos), p el número de variables independientes con efectos fijos, y m el de variables independientes con efectos aleatorios.

Para que los modelos lineales mixtos funcionen de forma adecuada han de satisfacerse una serie de supuestos: 1) la relación entre la variable dependiente y las independientes ha de ser lineal, 2) los residuales han de seguir una distribución normal, al igual que la variable dependiente, 3) la homogeneidad de la varianza de los residuales, y 4) ausencia de multicolinealidad entre las variables independientes. Bajo estos supuestos, la estimación de los componentes de varianza y covarianza se puede realizar por procedimientos basados en la función de máxima verosimilitud, siendo la función de máxima verosimilitud restringida ("*restricted maximum likelihood*" o REML) la preferida para obtener estimadores de componentes de varianza en el marco de un modelo mixto.

El modelo estándar utilizado en el análisis de los ensayos clínicos de bioequivalencia, dada su estructura jerarquizada en dos niveles, uno inferior, formulación/periodo y otro superior, secuencia (véase: **Figura 3.7 modelo1**), puede representarse como el siguiente modelo lineal mixto de medidas repetidas (LMMR),

$$Y = F + P + S + I(S) + \varepsilon,$$

donde **Y** representa a la variable dependiente farmacocinética, **F**, **P** y **S** las variables independientes (*efectos fijos*) formulación, periodo y secuencia, respectivamente, e **I(S)** representa a la variable independiente individuo anidado en la secuencia (*efecto aleatorio*) al ser asignado el individuo de forma aleatoria a una de las dos secuencias de tratamiento, y por último, ε representa a la variabilidad residual no explicada por el modelo.

Por este motivo, y aprovechando la estructura jerárquica de las demás variables independientes (sexo y genotipo) analizadas en nuestro estudio, hemos diseñado otros tres modelos LMMR para contestar a preguntas específicas. En la **Figura 3.7** se representan de forma esquemática la estructura jerarquizada de los cuatro modelos LMMR utilizados en el análisis. El análisis de los modelos LMMR se realizó con SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) y su sintaxis se encuentra en el **Anexo 1** (pág. A5-A21).

3.4.2.1.- Modelo 1: efecto formulación, periodo o secuencia

Con el *modelo 1* (véase: **Figura 3.7**) se pretende contestar a la pregunta si existen diferencias entre las formulaciones (test y referencia), entre los periodos 1 y 2 o entre las secuencias 1 (RT) o 2 (TR), es decir, pretende contestar a la pregunta central de un ensayo clínico de bioequivalencia. Hemos incluido el *modelo 1* en el análisis para comprobar si los resultados obtenidos con él coincidían con los obtenidos para las tres estatinas con el análisis estadístico estándar de bioequivalencia y de esta forma tener un referente de validación externa.

Para pravastatina (91-PRA) y simvastatina (84-SIM) el *modelo 1* contiene las mismas variables independientes diferenciándose únicamente en las variables farmacocinéticas dependientes (véanse: **Figuras 3.8 y 3.9**). Por su parte, el *modelo 1* de lovastatina (3-LOVs) contiene una variable independiente con efecto fijo (el efecto ensayo, E) más que las dos anteriores pero el mismo número de variables farmacocinéticas dependientes que 84-SIM (véase: **Figura 3.10**).

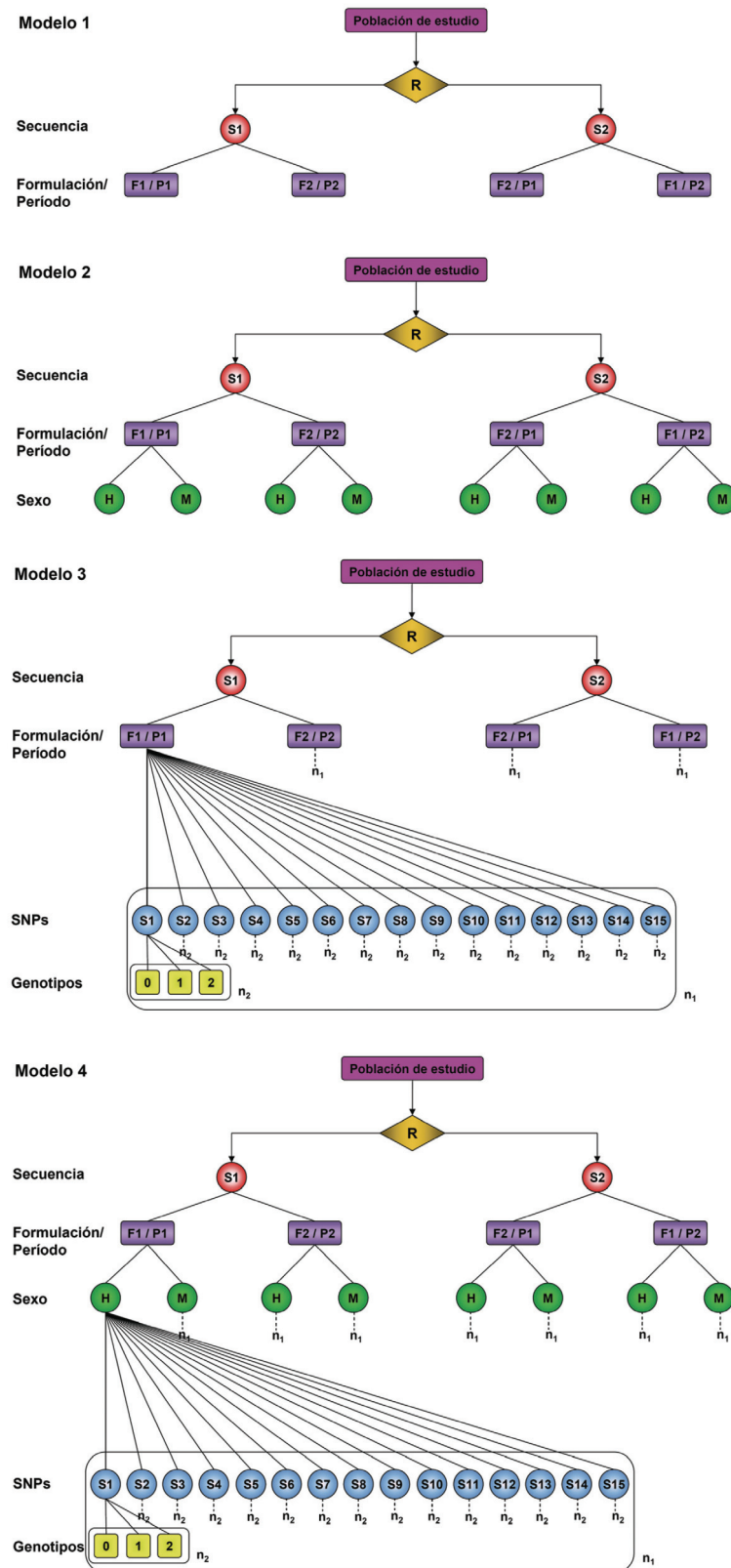


Figura 3.7. Estructura jerarquizada de las variables independientes utilizadas en los cuatro modelos LMMR. [*F*, formulación 1 (*F1*) o referencia y 2 (*F2*) o test; *H*, hombres; *M*, mujeres; n_1 , número de SNPs; n_2 , número de genotipos; *P*, período 1 (*P1*) y 2 (*P2*); *R*, distribución aleatoria de la secuencia; *S*, secuencia 1 (*S1*) o RT y 2 (*S2*) o TR; *S1-S15*, SNPs 1-15]

Las variables farmacocinéticas dependientes que se analizaron en 91-PRA fueron C_{\max} (ng/ml) y AUC_t (ng·h/ml) sin ajustar y ajustadas de tres formas ($_p$, por kg de peso corporal; $_p70$, por el peso corporal de una persona de 70 kg; o $_dp$, por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; en los tres casos se utilizó el peso corporal medido en cada periodo – momento de administración del fármaco), Cl/F (ml/min/kg) y $t_{1/2}$ (h), en total 10 (véase: **Figura 3.8**). En 84-SIM y 3-LOVs las variables dependientes fueron 18 al ser analizadas las variables farmacocinéticas de la lactona y el hidroxiaácido (OHAc), aunque no la $t_{1/2}$ y sí el MR ("metabolic ratio" o cociente metabólico calculado mediante la fórmula $MR = AUC_t \text{ hidroxiaácido} / AUC_t \text{ lactona}$) (véanse: **Figuras 3.9 y 3.10**).

De esta forma los *modelos 1* analizados fueron 10 para 91-PRA, 18 para 84-SIM y otros tantos para 3-LOVs. Para satisfacer el supuesto de normalidad de la variable dependiente todas ellas fueron transformadas utilizando la fórmula $Y = \ln(X \cdot 10^3)$.

3.4.2.2.- Modelo 2: diferencias entre sexos

El *modelo 2* utiliza la estructura del modelo uno al que se le añadió el sexo como un nivel inferior (véase: **Figura 3.7**). De esta forma el sexo se convierte en la cuarta variable independiente con efectos fijos y el individuo anidado en la interacción entre secuencia y sexo ($I(S \cdot G)$) en el nuevo factor con efectos aleatorios (véanse: **Figuras 3.8-3.10**). Las variables farmacocinéticas dependientes analizadas fueron las mismas que en el *modelo 1* para cada una de las estatinas.

La pregunta a la que se pretende contestar con el *modelo 2* es si existen diferencias entre hombres y mujeres en las variables farmacocinéticas analizadas una vez ajustadas por las demás variables independientes incluidas en el modelo. El valor p se obtuvo del contraste basado en las comparaciones por parejas, linealmente independientes, entre las medias marginales estimadas por el modelo ($P(m2)$). Se utilizó como referencia a los hombres para expresar la magnitud de las diferencias entre sexos en tanto por cien con su IC95% y en las unidades originales de las variables dependientes. Para ello, a las variables predichas (ajustadas) por el modelo se les deshizo la transformación ($Y = \ln(X \cdot 10^3)$) aplicada para cumplir el supuesto de normalidad aplicando la fórmula $X = \text{anti } \ln(Y) / 10^3$. Las distribuciones de las variables cinéticas en hombres y mujeres predichas por el *modelo 2* fueron representadas gráficamente mediante diagramas de caja ("box-plots"). El número final de *modelos 2* analizados fue el mismo que de *modelos 1*: 10, 18 y 18 para 91-PRA, 84-SIM y 3-LOVs, respectivamente.

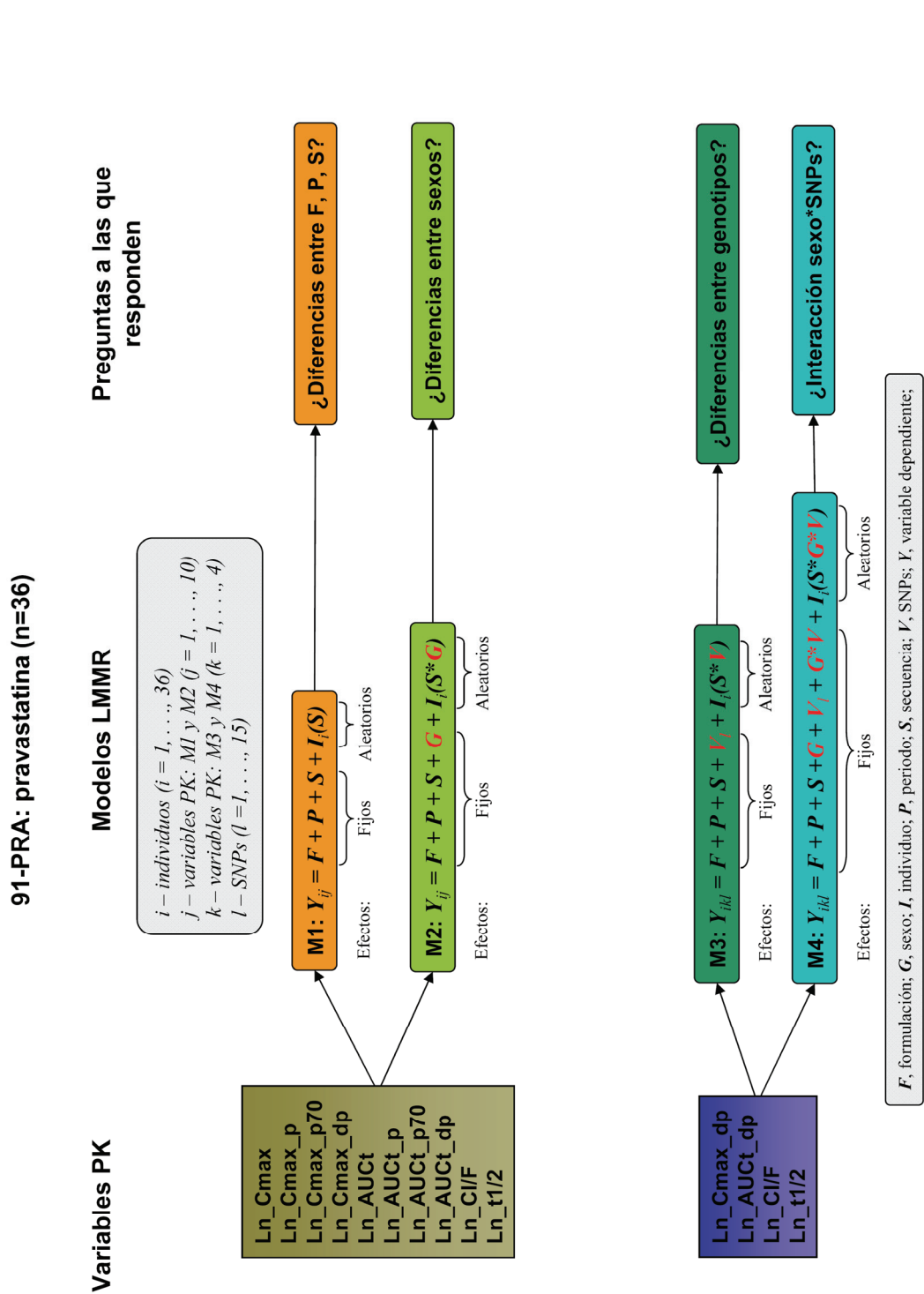


Figura 3.8. Descripción de las variables cinéticas dependientes y los factores de los cuatro modelos LMMR para 91-PRA.

3.4.2.3.- Modelo 3: diferencias entre genotipos

El *modelo 3* utiliza la estructura del *modelo dos* al que se le sustituyó la variable sexo por el genotipo de cada uno de los SNPs analizados (véase: **Figura 3.7**) que finalmente fueron 15 ya que dos de los 17 SNPs resultaron monomórficos en la población de estudio. Dado que si incluíamos los 15 SNPs junto con las otras tres variables independientes en el mismo modelo se sobrepasaba la capacidad de cálculo de SPSS 15.0, decidimos analizar el efecto de los SNPs en 15 modelos separados, uno por SNP, y aplicar la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

El genotipo de cada uno de los 15 SNPs fue la cuarta variable independiente con efectos fijos y el individuo anidado en la interacción entre secuencia y sexo ($I(S*V)$) en el nuevo factor con efectos aleatorios (véanse: **Figuras 3.8-3.10**). De los tres tipos de ajustes aplicados a las variables farmacocinéticas dependientes en los *modelos 1* y *2* fue seleccionado el ajuste por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal ($_{dp}$) como el más adecuado. De esta forma las variables dependientes seleccionadas para ser analizadas fueron cuatro (C_{max_dp} , AUC_{t_dp} , Cl/F y $t_{1/2}$) en 91-PRA y seis (C_{max_dp} , AUC_{t_dp} y Cl/F para la lactona y $OHAc-C_{max_dp}$, $OHAc-AUC_{t_dp}$ y MR para el hidroxiaácido) en 84-SIM y 3-LOVs (véanse: **Figuras 3.8-3.10**).

La pregunta a la que se pretende contestar con el *modelo 3* es si existen diferencias entre los tres genotipos (0, 1 y 2) de un SNP en las variables farmacocinéticas analizadas una vez ajustadas por las demás variables independientes incluidas en el modelo. El valor p se obtuvo del contraste basado en las comparaciones por parejas, linealmente independientes, entre las medias marginales estimadas por el modelo ($P(m3)$). Se utilizó como valor de referencia el genotipo "0" o silvestre para expresar la magnitud de las diferencias entre éste y los dos genotipos restantes en tanto por cien con su IC95% y en las unidades originales de las variables dependientes. Para ello, al igual que en el *modelo 2*, a las variables predichas (ajustadas) por el modelo se les deshizo la transformación ($Y = \ln(X*10^3)$) aplicada para cumplir el supuesto de normalidad aplicando la fórmula $X = \text{anti } \ln(Y) / 10^3$. Las distribuciones de las variables cinéticas en los genotipos de cada uno de los 15 SNPs predichas por el *modelo 3* fueron representadas gráficamente mediante diagramas de caja ("*box-plots*"). El número final de *modelos 3* analizados fue de: 60, 90 y 90 para 91-PRA, 84-SIM y 3-LOVs, respectivamente.

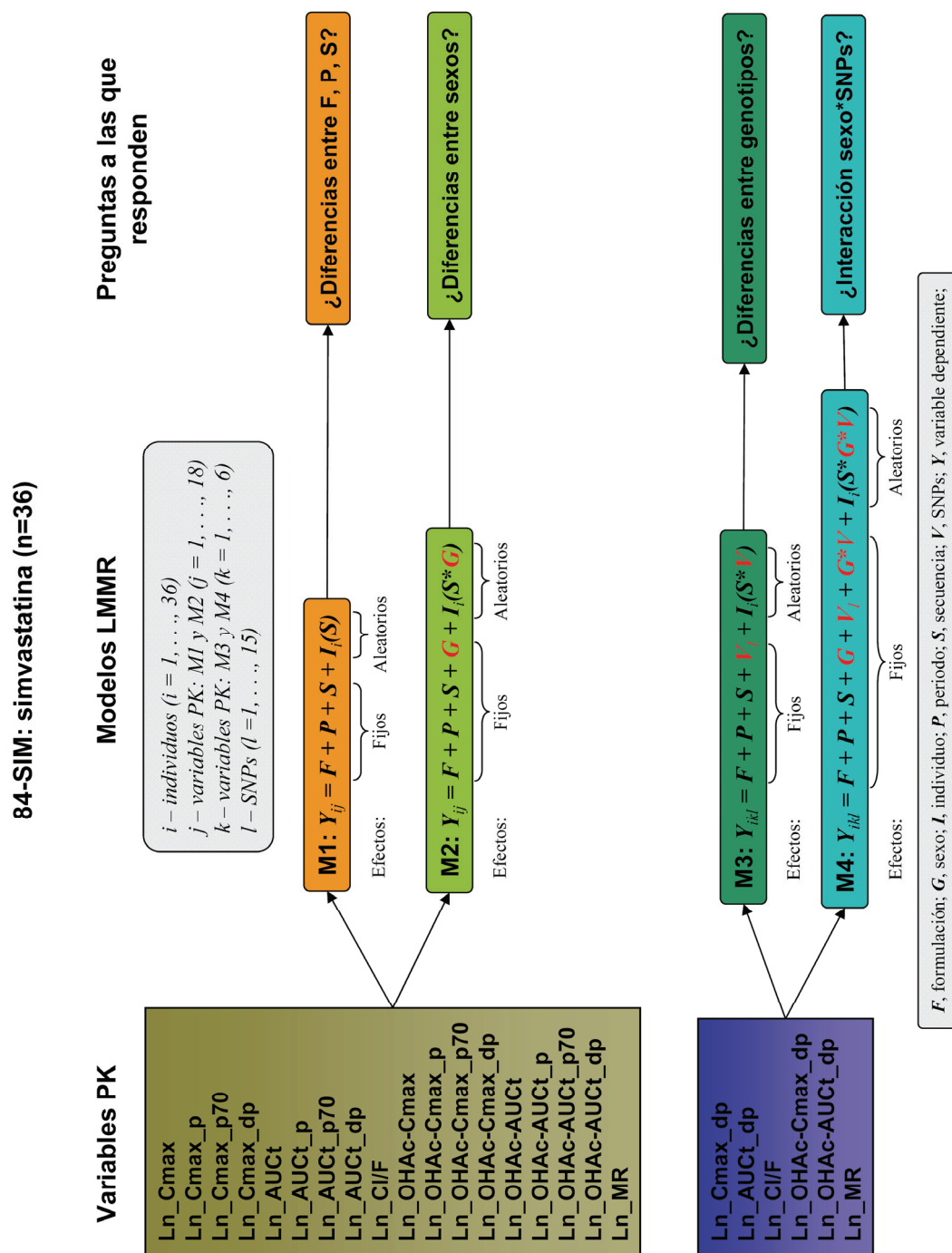


Figura 3.9. Descripción de las variables cinéticas dependientes y los factores de los cuatro modelos LMMR para 84-SIM.

3.4.2.4.- Modelo 4: interacción entre sexo y genotipos

En la estructura del *modelo 4* se le añadieron como niveles inferiores el sexo y el genotipo (véase: **Figura 3.7**). De esta forma a las variables independientes con efectos fijos del modelo 1 se añadieron el sexo, el genotipo y la interacción entre ambos ($G*V$); el nuevo factor con efectos aleatorios fue el individuo anidado en la interacción entre secuencia, sexo y genotipo ($I(S*G*V)$) (véanse: **Figuras 3.8-3.10**). Las variables farmacocinéticas dependientes analizadas fueron las mismas que en el *modelo 3* para cada una de las estatinas.

La pregunta a la que se pretende contestar con el *modelo 4* es si existe interacción entre el sexo y el genotipo de cada uno de los 15 SNPs, es decir, si el polimorfismo genético tiene un efecto sobre las variables farmacocinéticas diferente en los hombres y en las mujeres. El valor p de esa interacción se obtuvo del contraste basado en las comparaciones por parejas, linealmente independientes, entre las medias marginales estimadas por el modelo ($P(m4)$) y fue ajustado con la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

Los valores medios de las variables cinéticas predichas (ajustadas) por el modelo una vez deshecha la transformación ($Y = \ln(X*10^3)$) aplicada para cumplir el supuesto de normalidad aplicando la fórmula $X = \text{anti } \ln(Y) / 10^3$ fueron representados gráficamente mediante gráficos de barras 3D en hombres y mujeres por los genotipos de cada uno de los 15 SNPs.

La comprobación del cumplimiento de los supuestos de los modelos LMMR se realizó mediante el análisis de la distribución normal de los residuales aplicando el test de Shapiro-Wilks junto con el procedimiento gráfico estándar que consiste en comprobar la ausencia de un patrón establecido claro en las gráficas que representan los residuales frente a los valores predichos por el modelo. Así mismo se comprobó la correlación lineal entre los valores observados para la variable dependiente y los predichos por el modelo.



3.4.3.- Modelos de regresión lineal multivariante (RLM)

Los modelos de regresión lineal multivariante constituyen la técnica estadística adecuada para explorar la relación lineal entre una variable dependiente cuantitativa y varias variables predictoras cuantitativas o cualitativas. Permiten analizar el conjunto de posibles variables explicativas y determinar aquellas que son importantes para explicar la variable dependiente estudiada. Además, son capaces de controlar los efectos de los factores de confusión para estimar el efecto propio de un conjunto de variables independientes sobre una variable dependiente.

En general, el modelo de regresión lineal múltiple con p variables predictoras (X) viene dada por la siguiente ecuación de regresión:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \dots + \beta_p X_{ip} + \varepsilon_i \text{ para } i = 1, \dots, n$$

donde Y_i , es la variable dependiente, β_0 , la constante o intersección de la ecuación, β_1, \dots, β_p , los parámetros o coeficientes de regresión de cada una de las variables predictoras estimados siguiendo el criterio de mínimos cuadrados, y ε_i , el error de predicción residual.

Con el modelo de RLM se pueden calcular los siguientes coeficientes: 1) el coeficiente de determinación (R^2) que representa la proporción de la variabilidad total en la variable dependiente explicada por el modelo; 2) el coeficiente de determinación corregido (R_c^2) por el número de variables independientes incluidas en el modelo y así evitar su incremento ficticio además de permitir la comparación de los R^2 de modelos con distinto número de variables predictoras; 3) el cambio en R^2 (ΔR^2) que se produce al introducir en el modelo una de las variables independientes, su magnitud indica la capacidad predictiva de la variable independiente y refleja la parte de la variabilidad explicada por ésta ajustada por el resto de variables independientes; 4) los coeficientes de regresión no estandarizados con sus IC95% que indican, con una confianza del 95%, el intervalo de cambio producido en la variable dependiente por cada unidad de cambio en la variable independiente, por lo que, al poseer distintas unidades de medida no son comparables entre sí; y 5) los coeficientes de regresión estandarizados, comparables entre sí al carecer de unidades de medida, indican el grado de contribución de cada una de las variables predictoras a la variabilidad de la variable dependiente. Las pruebas de significación global del modelo (F de Snedecor) y de significación de los coeficientes de regresión y de los ΔR^2 correspondientes (t de Student) indican si la ecuación de regresión explica una parte significativa de la

variabilidad de la variable dependiente y si cada una de las variables independientes aporta al modelo una contribución estadísticamente significativa.

Para estimar correctamente los diferentes coeficientes, calcular sus intervalos de confianza y efectuar las pruebas de significación es necesario que se cumplan los supuestos de linealidad (que Y sea una función lineal de las variables independientes), de homocedasticidad (que la varianza de Y para cada variable independiente sea constante), de independencia (que los valores de Y sean independientes) y de normalidad (que los valores de Y sigan una distribución normal). Cuando se cumplen todos estos supuestos, los errores residuales (ε_i) se distribuyen según una ley normal con media 0.

3.4.3.1.- Variables farmacocinéticas

Los valores de las variables farmacocinéticas provenientes de los ensayos clínicos de bioequivalencia son medidas repetidas por lo que no son independientes por el simple hecho de su diseño cruzado. Para poder estimar la contribución de las distintas variables independientes utilizando los modelos de RLM hemos decidido sumar los valores de cada una de estas variables farmacocinéticas correspondientes al periodo 1 y 2 de cada voluntario. De esta forma no se viola el supuesto de independencia a la vez que se anulan los efectos de las variables formulación, periodo y secuencia. Consideramos que las nuevas variables farmacocinéticas "totales", resultantes de la suma de las medidas repetidas para cada voluntario en cada periodo, como una estimación aproximada de la cantidad total de fármaco a la que ha estado expuesto cada voluntario durante todo el ensayo.

Para cada una de las variables farmacocinéticas "totales" (o " $_t$ ") hemos utilizado el método de RLM por "pasos sucesivos" de SPSS 15.00 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) para seleccionar el mejor modelo utilizando las variables independientes preestablecidas. La selección de los mejores modelos de RLM se ha realizado para las tres estatinas pravastatina, simvastatina y lovastatina, en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado. La sintaxis detallada para SPSS 15.0 utilizada en estos modelos se encuentra en el **Anexo 1** (pág. A21-A25).

En el caso de pravastatina (91-PRA) las variables dependientes modeladas han sido tres ($C_{\max_dp_t}$, $AUC_{t_dp_t}$ y Cl/F_t), y las independientes, de entre las cuales se seleccionó el mejor modelo, el sexo y los 15 SNPs genotipados. Las variables dependientes modeladas para simvastatina (84-SIM) y lovastatina (3-LOVs) han sido seis ($C_{\max_dp_t}$, $AUC_{t_dp_t}$ y Cl/F_t de la lactona, y $C_{\max_dp_t}$, $AUC_{t_dp_t}$ y

MR_t del hidroxíácido), mientras que las independientes han sido el sexo y los 15 SNPs genotipados para 84-SIM, y el ensayo, el sexo y los 15 SNPs genotipados para 3-LOVs. En todos los polimorfismos se ha asumido que siguen un modelo genético aditivo (cada alelo aporta lo mismo) al ser el más conservativo. Con la utilización de modelos de RLM se consiguió integrar en el mismo modelo todos los SNPs y no analizar su aportación de uno en uno en modelos separados como nos vimos obligados a hacer en el caso de los modelos LMMR tres y cuatro.

3.4.3.2.- Variables farmacodinámicas (eficacia hipolipemiente)

Los niveles basales, el cambio en los valores de colesterol total y triglicéridos, y el tiempo transcurrido en días desde la última dosis de fármaco recibida en el correspondiente ensayo clínico hasta su determinación se analizaron en la población de estudio (CFC-ESP, n=207). Se compararon sus valores según fármaco (estatinas vs. fármacos sin efecto hipolipemiente como loperamida y mirtazapina) y según sexo. La comparación entre hombres y mujeres se realizó, también, para cada una de las estatinas (91-PRA, 84-SIM y 3-LOVs).

En caso de que se detectaran diferencias estadísticamente significativas en los cambios respecto a los valores basales de colesterol total y triglicéridos entre los ensayos con estatinas y los ensayos con fármacos no hipolipemiantes se construyeron modelos de RLM para estimar la contribución de una serie de variables independientes a la variabilidad de estas variables farmacodinámicas.

Se utilizó el método de RLM por “pasos sucesivos” de SPSS 15.00 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) para seleccionar el mejor modelo utilizando las variables independientes preestablecidas. La selección de los mejores modelos de RLM se realizó para las tres estatinas pravastatina, simvastatina y lovastatina, en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado. La sintaxis detallada para SPSS 15.0 utilizada en estos modelos se encuentra en el **Anexo 1** (pág. A21-A25).

Las variables independientes para pravastatina (91-PRA) de entre las cuales se seleccionó el mejor modelo fueron el sexo, los 15 SNPs genotipados, el AUC_tdp_t, el CI/F_t, el tiempo post administración en el 2º periodo del ensayo y los niveles basales de colesterol (n=20), mientras que para simvastatina (84-SIM) fueron las mismas más el OHAc-AUC_tdp_t y el MR_t (n=22). Para lovastatina (3-LOVs) fueron las mismas que simvastatina más el ensayo clínico (n=23). Al igual que en el caso de las variables farmacocinéticas, la selección de los mejores modelos de

RLM se ha realizado para las tres estatinas en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado.

La comprobación del cumplimiento de los supuestos de los modelos de RLM se realizó analizando la distribución normal de los residuales aplicando el test de Shapiro-Wilks. La homocedasticidad de las varianzas se realizó mediante el procedimiento estándar que consiste en comprobar la ausencia de un patrón establecido claro en las gráficas que representan los residuales tipificados frente a los valores tipificados predichos por el modelo.

Para comparar las medias de variables cuantitativas se aplicaron test paramétricos o no paramétricos (*U* de Mann-Whitney) en función de si las variables seguían o no una distribución normal. En todas las pruebas de hipótesis se aplicó un nivel de significación bilateral $P \leq 0.05$. Si no se indica lo contrario todos los cálculos estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS 15.00 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). Para la representación gráfica de los datos se utilizaron los programas SigmaPlot 10.0 (Systat Software Inc., San Jose, California) y GraphPad Prism 4.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, California).

3.4.4.-Análisis de la presencia de epístasis: el método GMDR

Para la detección de la presencia de interacciones epistáticas entre los polimorfismos analizados hemos utilizado el método de la reducción generalizada de la dimensionalidad multifactorial o GMDR ("*Generalized Multifactor Dimensionality Reduction*"). Se trata de un nuevo método desarrollado en 2007 por Lou y cols. (2007) como una extensión o generalización de la reducción de la dimensionalidad multifactorial o MDR ("*Multifactor Dimensionality Reduction*") desarrollada previamente por Ritchie y cols. (20001). El GMDR permite el análisis de fenotipos dicotómicos y cuantitativos continuos, puede ser aplicado tanto a estudios de diseño de casos y controles no balanceados como a poblaciones seleccionadas o aleatorias, y lo más importante y exclusivo, permite el ajuste por covariables cuanti y cualitativas.

En la **Figura 3.11** se ilustran de forma gráfica los pasos seguidos en la detección de modelos epistáticos con el método GMDR. El *primer paso* consiste en dividir de forma aleatoria el conjunto de datos fenotípicos correspondientes a los individuos que conforman la población de estudio en diez subconjuntos de aproximadamente igual tamaño que serán utilizados en el proceso de validación cruzada. Uno de los

subconjuntos se utilizará para testar (*paso 6*) el modelo epistático seleccionado en el proceso de “entrenamiento” (*pasos 2-5*) que utiliza los restantes nueve subconjuntos. Para reducir las fluctuaciones que se pueden introducir debido al sesgo de seleccionar a unos nueve y no a otros como los subconjuntos en los que se realiza la selección del mejor modelo, el proceso se repite diez veces hasta que en cada uno de los diez subconjuntos de “entrenamiento” llegue a elegirse un modelo. De esta forma se puede evaluar la consistencia del modelo durante la validación cruzada, es decir, en cuántos de los diez posibles subconjuntos de “entrenamiento” se ha seleccionado como el mejor al mismo modelo de interacción epistática. El proceso de “entrenamiento” comienza con el *paso 2* en el que dependiendo del modelo epistático de n (2, 3, ..., n) SNPs investigado, de la lista de N SNPs genotipados se seleccionan todas las posibles combinaciones de n SNPs. En el *paso 3*, todas las posibles clases multifactoriales definidas por los genotipos (0, 1 y 2) de los n -SNPs del modelo se representan por las casillas de una tabla de contingencia n -dimensional. En el *paso 3* de la **Figura 3.11** se muestra el modelo más simple en el que se analiza la interacción entre el SNP3 y el 4.

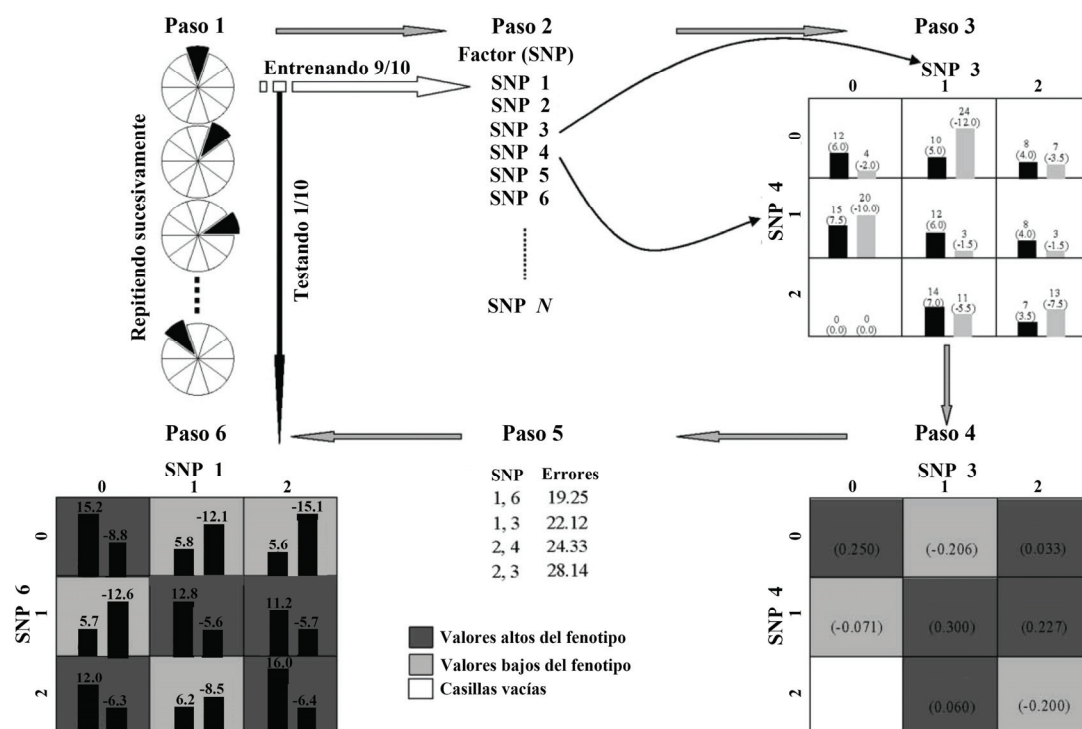


Figura 3.11. Esquema de la implementación del método GMDR para la detección de epistasis (Adaptada de Lou y cols., 2007). Para la descripción detallada de los *pasos* véase el texto principal.

Cada una de las casillas de la tabla de contingencia 3x3 representa al correspondiente grupo de individuos portadores de una combinación de genotipos determinada. Dentro de las casillas las barras negras representan a los individuos con "scores" positivos y las grises a los individuos con "scores" negativos. Los números entre paréntesis sobre las columnas representan a la suma de los "scores" y los números sin paréntesis al número de individuos con los correspondientes "scores". Los "scores" son el artificio estadístico que utiliza el método GMDR para representar a los valores de la variable fenotípica ajustados por las distintas covariables incluidas en un modelo lineal generalizado. Su cálculo se basa en estimaciones de la máxima verisimilitud ("*maximum-likelihood estimates*" o *MLEs*) y su descripción matemática detallada se puede encontrar en el artículo de Lou y cols. (Lou y cols., 2007). Su signo positivo o negativo indica que corresponden a valores altos o bajos de la variable fenotípica, respectivamente. En el *paso 4* para cada una de las casillas se calcula el "score" promedio (los números entre paréntesis en el *paso 4* de la **Figura 3.11**) y son clasificadas en casillas con valores fenotípicos altos (gris oscuro), bajos (gris claro) o vacías (blancas) según si son mayores o menores que cero o no contienen datos, respectivamente. Para contrastar la precisión del modelo en clasificar a los portadores de determinados genotipos como pertenecientes al grupo de valores fenotípicos altos o bajos se juntan todas las casillas pertenecientes a cada uno de los grupos, se calcula su "score" promedio y la diferencia absoluta entre ellos. En el *paso 5* todos los modelos de combinaciones de *n* SNPs son evaluados de forma secuencial y el modelo con mayor precisión predictiva o el de menor error de predicción es seleccionado como el mejor entre todos los posibles de la misma dimensionalidad (combinación de SNPs). Por último, en el *paso 6*, uno de los diez subconjuntos se utiliza para testar el modelo epistático seleccionado. Todos estos pasos se repiten para cada una de las dimensionalidades (por ejemplo, las combinaciones de 2, 3 y 4 SNPs) a investigar en busca del mejor modelo de interacción epistática. Finalmente, a todos estos modelos se les aplica el test no paramétrico del signo (a una cola) en el cual para el cálculo del valor *p* se utiliza la siguiente fórmula:

$$p = \sum_{k=c}^n \binom{n}{k} \left(\frac{1}{2}\right)^n$$

donde, *n* es el número de validaciones cruzadas y *c* es el número de validaciones cruzadas con una precisión de predicción ≥ 0.50 .

Dado que el método GMDR necesita un tamaño muestral considerable lo hemos aplicado sólo a los voluntarios con lovastatina (3-LOVs, *n*=100). Tras retirar a los

individuos con algún genotipo indeterminado hemos utilizado el programa *GMDR* v0.7 para analizar la presencia de epístasis en las variables farmacocinéticas y farmacodinámicas. Se trata de un software libre escrito en Java de fácil instalación y utilización, disponible en la siguiente dirección:

http://www.healthsystem.virginia.edu/internet/addiction-genomics/software/gmdr_f.cfm

Para identificar al mejor modelo de interacción se realizó una búsqueda aleatorizada (realizando 10 000 permutaciones por modelo) de entre los modelos epistáticos de combinaciones de 2 a 7 SNPs de los 15 investigados. Los resultados se presentan en formato de tabla en la que se indica la precisión de predicción, la consistencia de la validación cruzada y el valor p del test del signo correspondiente al mejor modelo de cada una de las combinaciones de n SNPs. Para los modelos con test del signo estadísticamente significativo ($p \leq 0.05$), los resultados obtenidos se muestran además en formato de tabla n -dimensional.

3.4.4.1.- Variables farmacocinéticas

Las variables cinéticas de lovastatina analizadas en busca de epístasis fueron: la $C_{\max_dp_t}$, el $AUC_{t_dp_t}$ y el CI/F_t de la lactona, y la $C_{\max_dp_t}$, el $AUC_{t_dp_t}$ y el MR_t del hidroxiácido. El cálculo de los “scores” para cada una de ellas se realizó utilizando modelos lineales generalizados que incluían como covariables de ajuste el sexo y el ensayo clínico (al provenir los voluntarios de tres ensayos clínicos de bioequivalencia distintos).

3.4.4.2.- Variables farmacodinámicas (eficacia hipolipemiante)

Como variable farmacodinámica se analizó en búsqueda de interacciones epistáticas el cambio de colesterol total respecto a la basal. El cálculo de los “scores” para esta variable se realizó utilizando modelos lineales generalizados que incluían como covariables de ajuste el sexo, el ensayo clínico (al provenir los voluntarios de tres ensayos clínicos de bioequivalencia distintos), el colesterol total basal, el $AUC_{t_dp_t}$ de la lactona y el $AUC_{t_dp_t}$ del hidroxiácido de lovastatina.

4 RESULTADOS

4.1.- Características demográficas de los participantes

El estudio farmacogenético se realizó en una población de 207 voluntarios sanos españoles (106 hombres y 101 mujeres) participantes en siete ensayos clínicos (EC) de bioequivalencia (cinco con estatinas y dos con loperamida y mirtazapina) llevados a cabo en la Unidad de Ensayos Clínicos del Centro de Farmacología Clínica (CFC-ESP) de la UAM. La población de estudio, a su vez, fue dividida en tres subpoblaciones. La primera de ellas y la más numerosa constaba de 100 voluntarios (51 hombres y 49 mujeres) que habían participado en los tres EC de bioequivalencia con lovastatina (3-LOVs). Las otras dos subpoblaciones englobaban a los sujetos que habían participado en los EC de bioequivalencia con simvastatina (84-SIM) y pravastatina (3-PRA) cada uno de ellos con 36 voluntarios (18 hombres y 18 mujeres).

En la **Tabla 4.1** se describen las características demográficas de los sujetos de la población de estudio (CFC-ESP) y de las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA) correspondientes a cada una de las estatinas estudiadas.

La edad media de los participantes fue de 24 años, su peso corporal total medio de 67 kg y su índice de masa corporal (IMC) medio de 23 kg/m². Los hombres de la población de estudio (CFC-ESP) pesaban de media unos 15 kg (IC95%: 13 - 18) más que las mujeres, eran 13 cm más altos (IC95%: 11 - 14), y su IMC era casi dos unidades (kg/m²) mayor. La magnitud de estas diferencias entre sexos, al igual que su significación estadística, se mantuvo en las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA), a excepción de la diferencia en el IMC que sólo alcanzó significación estadística en los sujetos con lovastatina. Las características demográficas de los participantes fueron similares entre las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA) y entre éstas y la población de estudio (CFC-ESP).

La diferencia en el peso corporal total observada entre ambos sexos se tradujo en una diferencia estadísticamente significativa en la dosis de fármaco recibida por unidad de peso corporal (mg/kg) (**Figura 4.1**). De esta forma, las mujeres recibían de media un 26% más miligramos de lovastatina (3-LOVs) por kilo de peso corporal que los hombres. Esta diferencia media fue de un 21% y un 22% en el caso de la simvastatina (84-SIM) y pravastatina (91-PRA), respectivamente.

Tabla 4.1. Características demográficas de las poblaciones de estudio.					
Característica	Total Media (±DE)	Hombres Media (±DE)	Mujeres Media (±DE)	Hombres vs Mujeres <i>P</i>	Media de las diferencias (IC95%)
CFC-ESP	n=207	n=106	n=101	<i>P</i>*	
Edad (años)	23.87 (±2.60)	24.00 (±2.71)	23.73 (±2.48)	0.451	0.27 (-0.44 - 0.99)
Peso (kg)	67.04 (±11.70)	74.53 (±9.65)	59.18 (±7.89)	<0.0001	15.35 (12.94 - 17.76)
Talla (m)	1.70 (±0.09)	1.76 (±0.06)	1.63 (±0.06)	<0.0001	0.13 (0.11 - 0.14)
IMC (kg/m ²)	23.07 (±2.62)	23.98 (±2.53)	22.11 (±2.36)	<0.0001	1.86 (1.19 - 2.53)
3-LOVs	n=100	n=51	n=49	<i>P</i>*	
Edad (años)	24.18 (±2.70)	24.03 (±2.93)	24.34 (±2.46)	0.573	-0.31 (-1.38 - 0.77)
Peso (kg)	66.54 (±11.44)	74.08 (±9.86)	58.69 (±6.74)	<0.0001	15.39 (12.50 - 18.73)
Talla (m)	1.70 (±0.09)	1.76 (±0.06)	1.63 (±0.05)	<0.0001	0.13 (0.11 - 0.16)
IMC (kg/m ²)	22.99 (±2.56)	23.83 (±2.53)	22.11 (±2.31)	0.001	1.72 (0.76 - 2.68)
84-SIM	n=36	n=18	n=18	<i>P</i>**	
Edad (años)	23.33 (±2.67)	23.33 (±2.36)	23.33 (±3.01)	0.962	0.00
Peso (kg)	65.53 (±9.96)	71.48 (±8.23)	59.57 (±7.84)	0.001	11.91
Talla (m)	1.69 (±0.09)	1.76 (±0.05)	1.63 (±0.08)	<0.0001	0.13
IMC (kg/m ²)	22.74 (±1.88)	23.02 (±2.00)	22.46 (±1.75)	0.467	0.57
91-PRA	n=36	n=18	n=18	<i>P</i>**	
Edad (años)	24.28 (±1.81)	24.89 (±2.12)	23.67 (±1.20)	0.093	1.22
Peso (kg)	65.93 (±10.10)	72.17 (±8.56)	59.69 (±7.37)	<0.0001	12.48
Talla (m)	1.68 (±0.08)	1.75 (±0.05)	1.61 (±0.04)	<0.0001	0.14
IMC (kg/m ²)	23.25 (±2.84)	23.57 (±2.73)	22.92 (±3.00)	0.393	0.65

DE, desviación estándar; IMC, índice de masa corporal; IC95%, intervalo de confianza al 95%.

* *t* de student (bilateral)

** *U* de Mann-Whitney (bilateral)

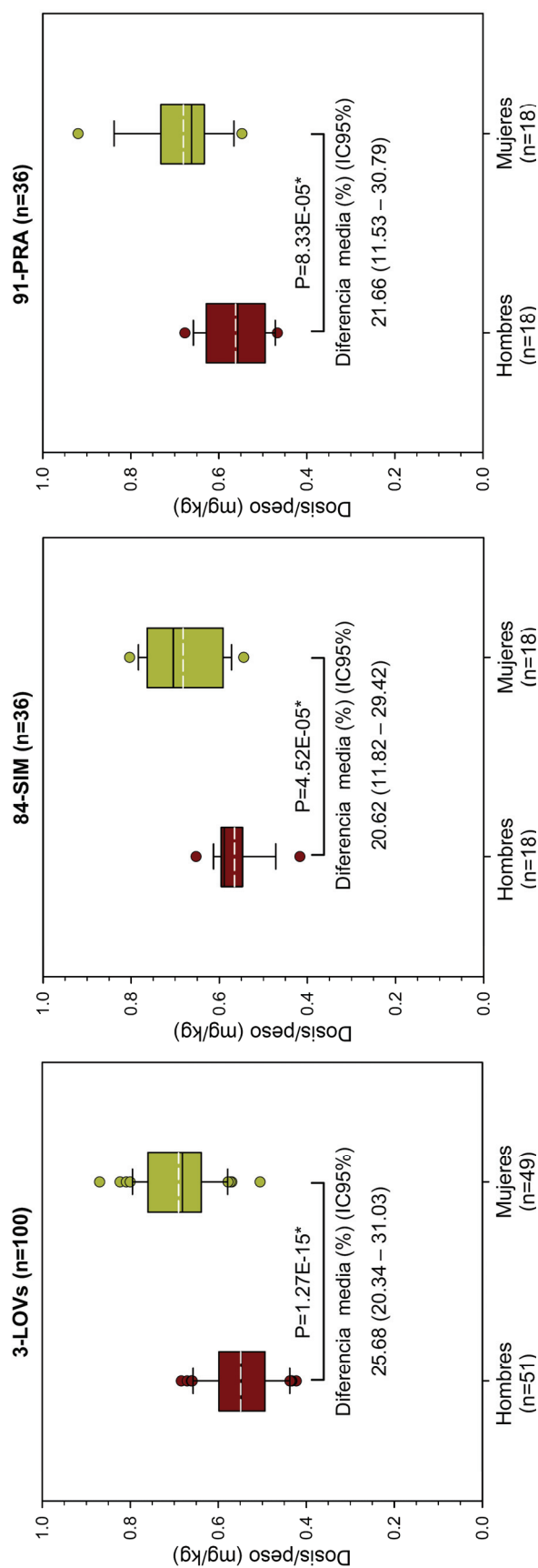


Figura 4.1. Diagramas de caja de la dosis de estatina (LOV, SIM y PRA) recibida ajustada por el peso en hombres y mujeres. (* *t de student* (bilateral)); dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras representan la media y la mediana, respectivamente).

4.2.- Frecuencias genotípicas y alélicas

En la población de estudio (CFE-ESP, n=207) se analizaron los genotipos de 17 SNPs en un total de 10 genes (ver: **Tabla 3.4**, pág. 138). De ellos sólo 15 SNPs resultaron polimórficos. Los dos SNPs que resultaron ser monomórficos en nuestra población de estudio (todos los individuos eran portadores homocigotos del alelo silvestre) fueron el SNP16 (rs28371759, *CYP3A4**18) y el SNP17 (rs4987161, *CYP3A4**17) del gen *CYP3A4*. Por lo tanto, a partir de ahora nos referiremos sólo a los SNPs polimórficos (SNP1-15) que hemos utilizado en el análisis del estudio farmacogenético.

4.2.1.- Cumplimiento del equilibrio de Hardy-Weinberg

Los 15 SNPs polimórficos en nuestra población de estudio cumplían el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) (**Tabla 4.2**). Cuando comprobamos el cumplimiento del EHW en ambos sexos observamos que a diferencia de las mujeres en los hombres los SNP12 y 13 del gen *SLCO1B1* no cumplían el EHW. En el caso del SNP12 la desviación del EHW se debió a un exceso de heterocigotos y en el del SNP13 a un exceso de homocigotos mutados (**Figura 4.2**).

Tabla 4.2. Análisis del cumplimiento del equilibrio de Hardy-Weinberg por los 15 SNP genotipados.

SNP	Test exacto de Fisher (P)*		
	Todos (n=207)	Hombres (n=106)	Mujeres (n=101)
SNP1	0.2222	0.0534	0.8285
SNP2	0.3623	0.8401	0.2338
SNP3	0.5820	1.0000	0.6427
SNP4	0.7724	0.6865	1.0000
SNP5	0.3201	0.4933	0.4714
SNP6	0.3201	0.4933	0.4714
SNP7	0.8867	0.1646	0.1001
SNP8	0.5677	0.1639	0.5435
SNP9	0.8864	1.0000	0.8422
SNP10	1.0000	1.0000	1.0000
SNP11	0.8798	0.4804	0.8389
SNP12	0.2397	0.0361	0.6797
SNP13	0.2563	0.0268	0.7303
SNP14	0.8783	1.0000	0.8300
SNP15	0.6154	1.0000	0.2645

* Calculado con la aplicación *De Finetti program* disponible en:
<http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>

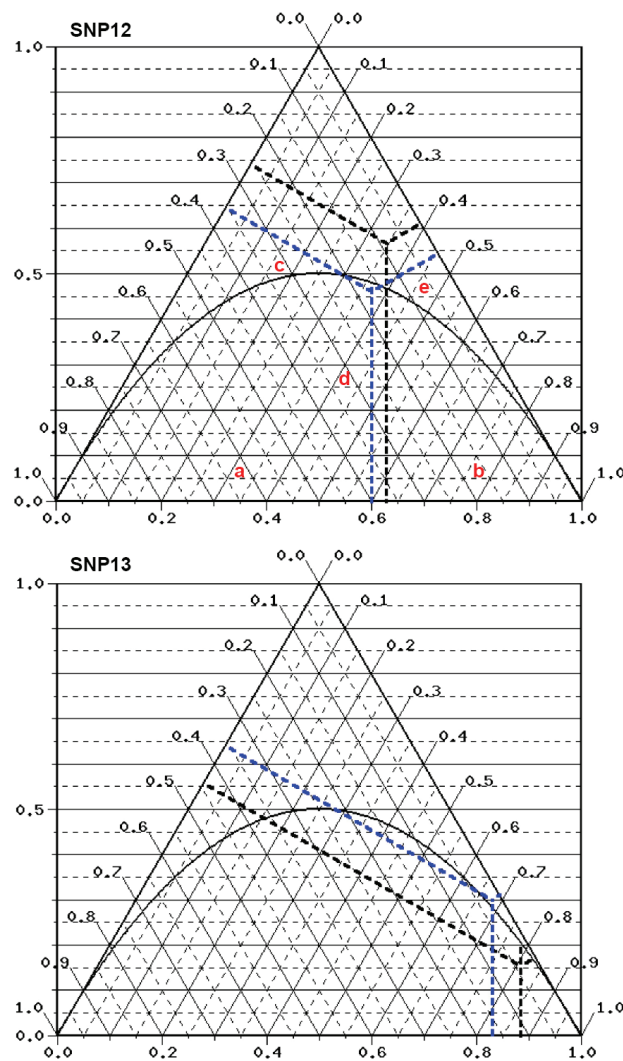


Figura 4.2. Diagrama de De Finetti para el SNP12 y 13 para ambos sexos (CFC-ESP, n=207).

El diagrama de De Finetti se utiliza para representar de forma gráfica las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW). El punto en el que la línea vertical **d** cruza el eje x marca la separación entre la frecuencia alélica del alelo dominante "**p**", **a**, y el minoritario "**q**", **b**. La longitud de la línea vertical izquierda, **c**, representa la frecuencia del genotipo "**p**²", la altura de la línea **d** marca la frecuencia del genotipo "**2pq**" y la longitud de la línea **e**, la frecuencia del genotipo "**q**²". La posición respecto de la parábola de Hardy-Weinberg del punto en el que se cruzan las líneas **c**, **d** y **e** marca la desviación o cumplimiento del EHW ($p^2+2pq+q^2=1$).

En el caso del SNP12 en los hombres (líneas discontinuas negras) se observa que se desvía del equilibrio por exceso de heterocigotos (**2pq**), mientras que en el caso del SNP13 lo hace por exceso de homocigotos ("**q**²") mutados. En cambio, en las mujeres (líneas discontinuas azules), ambos polimorfismos se ajustan al EHW.

(Las gráficas han sido elaboradas con la aplicación *De Finetti program* <http://ihq2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

4.2.2.- Frecuencias genotípicas y alélicas

Hemos acompañado a la descripción de las frecuencias alélicas y genotípicas de los 15 SNPs polimórficos en la población de estudio (CFE-ESP) con la comparación de éstas con las de las cuatro poblaciones de HapMap, con las de las distintas poblaciones españolas descritas en la literatura y con las de las tres subpoblaciones de las estatinas analizadas. Finalmente hemos evaluado las posibles diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas de estos 15 SNPs entre los hombres y las mujeres de la población de estudio (CFC-ESP), y de las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA).

4.2.2.1.- Comparación con las poblaciones del Proyecto HapMap

En la **Tabla 4.3** se muestran las frecuencias alélicas y genotípicas (con sus correspondientes intervalos de confianza al 95%) de los 15 SNPs polimórficos en la población de 207 voluntarios sanos españoles (CFE-ESP) junto con las de 60 caucasianos norteamericanos de origen centroeuropeo (CEU), 45 chinos *Han* de Beijín (HCB), 45 japoneses de Tokio (JPT) y 60 africanos *Yorubas* de Nigeria (YRI) que conforman las cuatro poblaciones investigadas en el Proyecto HapMap (www.hapmap.org).

En los 207 voluntarios españoles analizados hemos detectado 83 homocigotos para el alelo silvestre (TT), 103 heterocigotos (TG) y 21 homocigotos para el alelo mutado (GG) del SNP1 (rs4073054 T>G) del gen *NR1I3*. En el caso del SNP2 (rs2307424 C>T) del mismo gen los homocigotos para el alelo silvestre (CC), los heterocigotos (CT) y los homocigotos para el alelo mutado (TT) fueron 84, 100 y 22, respectivamente, y uno de los 207 presentó un genotipo indeterminado. Para el SNP3 (rs2502815 C>T) perteneciente, también, al gen *NR1I3*, los homocigotos para el alelo silvestre (CC), los heterocigotos (CT) y los homocigotos para el alelo mutado (TT) fueron 116, 75 y 15, respectivamente, e igualmente el genotipo de uno de los 207 no pudo ser determinado.

Para el SNP4 (rs3814055 C>T) que pertenece al gen *NR1I2* los homocigotos para el alelo silvestre (CC), los heterocigotos (CT) y los homocigotos para el alelo mutado (TT) fueron 69, 102 y 33, respectivamente, y el genotipo en tres de los 207 no pudo ser determinado. En el caso del SNP5 (rs3814057 A>C) del mismo gen los homocigotos para el alelo silvestre (AA), los heterocigotos (AC) y los homocigotos para el alelo mutado (CC) fueron 145, 54 y 8, respectivamente. Para el SNP6 (rs3814058 T>C), el último de los SNPs del gen *NR1I2* analizados, la distribución

de los genotipos (TT, TC y CC) fue la misma que la del SNP5 y tampoco hubo individuos con genotipos indeterminados.

Los SNP7 y 8 fueron los dos polimorfismos del gen *ABCB1* analizados. Para el SNP7 (rs2235048 C>T) los homocigotos para el alelo silvestre (CC), los heterocigotos (CT) y los homocigotos para el alelo mutado (TT) fueron 35, 101 y, 69, respectivamente, siendo dos los individuos cuyo genotipo no pudo ser determinado. En el caso del SNP8 (rs1045642 C>T) los sujetos portadores de los tres genotipos (TT, TC y CC) fueron 71, 96 y 39, respectivamente, y el genotipo no pudo ser determinado en sólo uno de los 207 individuos analizados.

El único polimorfismo del gen *PON3* analizado fue el SNP9 (rs10487132 A>G). Para éste los homocigotos para el alelo silvestre (AA), los heterocigotos (AG) y los homocigotos para el alelo mutado (GG) fueron 71, 99 y, 36, respectivamente, siendo sólo uno el individuo cuyo genotipo no pudo ser determinado.

Para el gen *CYP3A5* se analizó el SNP10 (rs776746 A>G o *1>*3) y la mayoría de los individuos (n=179) fueron portadores homocigotos del alelo mutado (GG o *3/*3) mientras que sólo 27 fueron portadores heterocigotos (AG o *1/*3). En nuestra población de 207 voluntarios sanos no se detectó ningún portador homocigoto del alelo silvestre (AA o *1/*1) y sólo en un individuo el genotipo no pudo ser determinado.

Para el SNP11 (rs5443 C>T) que pertenece al gen *GNB3* los homocigotos para el alelo silvestre (CC), los heterocigotos (CT) y los homocigotos para el alelo mutado (TT) fueron 86, 96 y 25, respectivamente.

Los SNP12 y 13 fueron los dos polimorfismos del gen *SLCO1B1* analizados. Para el SNP12 (rs2306283 A>G o *1>*1b) los homocigotos para el alelo silvestre (AA), los heterocigotos (AG) y los homocigotos para el alelo mutado (GG) fueron 73, 105 y 26, respectivamente, y el genotipo no pudo ser determinado en tres de los 207 individuos analizados. En el caso del SNP13 (rs4149056 T>C o *1>*5) los sujetos portadores de los tres genotipos (TT o *1/*1, TC o *1/*5 y CC o *5/*5) fueron 152, 46 y 6, respectivamente, e igualmente tres fueron los individuos cuyo genotipo no pudo ser determinado.

Tabla 4.3. Frecuencias genotípicas y alélicas de los 15 SNPs en la población de estudio (CFC-ESP) y las cuatro poblaciones del Proyecto HapMap.

Polimorfismos (genotipos/alelos)		CFC-ESP (n=207)		HapMap-CEU (n=60)		HapMap-HCB (n=45)		HapMap-JPT (n=45)		HapMap-YRI (n=60)	
	n	Frecuencias* (IC95%)	n	Frecuencias* (IC95%)	n	Frecuencias* (IC95%)	n	Frecuencias* (IC95%)	n	Frecuencias* (IC95%)	n
SNP1 (rs4073054)											
0 (T/T)	83	40.10 (33.43-47.14)	21	35.00 (23.45-48.48)	36	80.00 (64.95-89.91)	41	93.18 (80.29-98.22)	36	60.00 (46.55-72.17)	60
1 (T/G)	103	49.76 (42.78-56.75)	29	48.33 (35.40-61.48)	9	20.00 (10.09-35.05)	3	6.82 (1.78-19.71)	21	35.00 (23.45-48.48)	21
2 (G/G)	21	10.14 (6.53-15.28)	10	16.67 (8.70-28.98)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	3	5.00 (1.30-14.82)	3
T		64.98 (60.14-69.53)		59.17 (49.81-67.94)		90.00 (81.41-95.04)		96.59 (89.66-99.11)		77.50 (68.79-84.41)	
G		35.02 (30.47-39.86)		40.83 (32.06-50.19)		10.00 (4.96-18.59)		3.41 (0.89-10.34)		22.50 (15.59-31.21)	
SNP2 (rs2307424)											
0 (C/C)	84	40.78 (34.07-47.84)	27	45.00 (32.33-58.31)	11	24.44 (13.38-39.86)	6	13.64 (5.67-28.05)	46	80.70 (67.68-89.53)	46
1 (C/T)	100	48.54 (41.57-55.57)	26	43.33 (30.81-56.70)	21	46.67 (31.94-61.97)	26	59.09 (43.31-73.30)	11	19.30 (10.47-32.32)	11
2 (T/T)	22	10.68 (6.96-15.92)	7	11.67 (5.21-23.18)	13	28.89 (16.84-44.52)	12	27.27 (15.45-43.04)	0	0.00 (0.00-0.00)	0
C		65.05 (60.20-69.61)		66.67 (57.41-74.85)		47.78 (37.24-58.51)		43.18 (32.80-54.16)		90.35 (83.02-94.85)	
T		34.95 (30.39-39.80)		33.33 (25.15-42.59)		52.22 (41.49-62.76)		56.82 (45.84-67.20)		9.65 (5.15-16.98)	
SNP3 (rs2502815)											
0 (C/C)	116	56.31 (49.24-63.14)	34	56.67 (43.30-69.19)	15	33.33 (20.44-49.05)	12	26.67 (15.10-42.21)	19	32.21 (20.97-45.76)	19
1 (C/T)	75	36.41 (29.91-43.42)	23	38.33 (26.35-51.81)	21	46.67 (31.94-61.97)	27	60.00 (44.37-73.94)	31	52.54 (39.23-65.52)	31
2 (T/T)	15	7.28 (4.27-11.95)	3	5.00 (1.30-14.82)	9	20.00 (10.09-35.05)	6	13.33 (5.54-27.48)	9	15.25 (7.63-27.49)	9
C		74.51 (69.96-78.59)		75.83 (67.00-82.97)		56.67 (45.82-66.94)		56.67 (45.82-66.94)		58.47 (49.03-67.35)	
T		25.49 (21.41-30.04)		24.17 (17.03-33.00)		43.33 (33.06-54.18)		43.33 (33.06-54.18)		41.53 (32.65-50.97)	

(continúa...)

Tabla 4.3. (Continúa)

Polimorfismos (genotipos/alelos)		CFC-ESP (n=207) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-CEU (n=60) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-HCB (n=45) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-JPT (n=45) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-YRI (n=60) Frecuencias* (IC95%)	
	n		n		n		n		n		n
SNP4 (rs3814055)											
0 (C/C)	204	33.82 (27.45-40.81)	21	35.00 (23.45-48.48)	26	57.78 (42.24-72.01)	25	55.56 (40.13-70.05)	34	56.67 (43.30-69.19)	60
1 (C/T)	102	50.00 (42.96-57.04)	30	50.00 (36.95-63.05)	18	40.00 (26.06-55.63)	14	31.11 (18.62-46.80)	20	33.33 (22.01-46.79)	
2 (T/T)	33	16.18 (11.55-22.12)	9	15.00 (7.50-27.08)	1	2.22 (0.12-13.23)	6	13.33 (5.54-27.48)	6	10.00 (4.13-21.17)	
C		58.82 (53.86-63.61)		60.00 (50.64-68.71)		77.78 (67.55-85.59)		71.11 (60.45-79.94)		73.33 (64.34-80.79)	
T		41.18 (36.39-46.14)		40.00 (31.29-49.36)		22.22 (14.41-32.45)		28.89 (20.06-39.55)		26.67 (19.21-35.66)	
SNP5 (rs3814057)											
0 (A/A)	145	70.05 (63.24-76.10)	51	87.93 (76.09-94.61)	10	22.73 (11.99-38.22)	9	20.45 (10.32-35.75)	15	25.43 (15.37-38.70)	
1 (A/C)	54	26.09 (20.36-32.72)	7	12.07 (5.39-23.91)	26	59.09 (43.31-73.30)	24	54.55 (39.00-69.31)	29	49.15 (36.05-62.36)	
2 (C/C)	8	3.86 (1.80-7.74)	0	0.00 (0.00-0.00)	8	18.18 (8.71-33.23)	11	25.00 (13.70-40.65)	15	25.42 (15.37-38.70)	
A		83.09 (79.05-86.50)		93.97 (87.53-97.33)		52.27 (41.41-62.93)		47.73 (37.07-58.59)		50.00 (40.71-59.29)	
C		16.91 (13.50-20.95)		6.03 (2.67-12.47)		47.73 (37.07-58.59)		52.27 (41.41-62.93)		50.00 (40.71-59.29)	
SNP6 (rs3814058)											
0 (T/T)	145	70.05 (63.24-76.10)	51	87.93 (76.09-94.61)	10	22.22 (11.99-38.22)	9	20.93 (10.58-36.48)	15	25.43 (15.37-38.70)	
1 (T/C)	54	26.09 (20.36-32.72)	7	12.07 (5.39-23.91)	27	60.00 (44.37-73.94)	23	53.49 (37.83-68.53)	29	49.15 (36.05-62.36)	
2 (C/C)	8	3.86 (1.80-7.74)	0	0.00 (0.00-0.00)	8	17.78 (8.51-32.59)	11	25.58 (14.04-41.47)	15	25.42 (15.37-38.70)	
T		83.09 (79.05-86.50)		93.97 (87.53-97.33)		52.22 (41.49-62.76)		47.67 (36.89-58.66)		50.00 (40.71-59.29)	
C		16.91 (13.50-20.95)		6.03 (2.67-12.47)		47.78 (37.24-58.51)		52.33 (41.34-63.11)		50.00 (40.71-59.29)	

(continúa...)

Tabla 4.3. (Continúa)

Polimorfismos (genotipos/alelos)		CFC-ESP (n=207) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-CEU (n=60) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-HCB (n=45) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-JPT (n=45) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-YRI (n=60) Frecuencias* (IC95%)	
n		n		n		n		n		n	
SNP7											
(rs2235048)		205		58		45		44		59	
0 (C/C)	35	17.07 (12.33-23.08)	14	24.14 (14.28-37.46)	9	20.00 (10.09-35.05)	9	20.45 (10.32-35.75)	1	1.69 (0.09-10.29)	
1 (C/T)	101	49.27 (42.26-56.30)	35	60.34 (46.64-72.67)	18	40.00 (26.06-55.63)	24	54.55 (39.00-69.31)	11	18.64 (10.10-31.32)	
2 (T/T)	69	33.66 (27.32-40.63)	9	15.52 (7.77-27.93)	18	40.00 (26.06-55.63)	11	25.00 (13.70-40.65)	47	79.67 (66.80-88.61)	
C		41.71 (36.92-46.66)		54.31 (44.83-63.50)		40.00 (29.98-50.88)		47.73 (37.07-58.59)		11.02 (6.23-18.44)	
T		58.29 (53.34-63.08)		45.69 (36.50-55.17)		60.00 (49.12-70.02)		52.27 (41.41-62.93)		88.98 (81.56-93.77)	
SNP8											
(rs1045642)		206		58		45		44		59	
0 (C/C)	71	34.47 (28.09-41.44)	9	15.52 (7.77-27.93)	18	40.00 (26.06-55.63)	11	25.00 (13.70-40.65)	47	79.67 (66.80-88.61)	
1 (C/T)	96	46.60 (39.68-53.65)	35	60.34 (46.64-72.67)	18	40.00 (26.06-55.63)	24	54.55 (39.00-69.31)	11	18.64 (10.10-31.32)	
2 (T/T)	39	18.93 (13.96-25.09)	14	24.14 (14.28-37.46)	9	20.00 (10.09-35.05)	9	20.45 (10.32-35.75)	1	1.69 (0.09-10.29)	
C		57.77 (52.83-62.56)		45.69 (36.50-55.17)		60.00 (49.12-70.02)		52.27 (41.41-62.93)		88.98 (81.56-93.77)	
T		42.23 (37.44-47.17)		54.31 (44.83-63.50)		40.00 (26.06-55.63)		47.73 (37.07-58.59)		11.02 (6.23-18.44)	
SNP9											
(rs10487132)		206		60		44		44		60	
0 (T/T)	71	34.47 (28.09-41.44)	21	35.00 (23.45-48.48)	44	100.00 (0.00-0.00)	43	97.73 (86.49-99.88)	50	83.33 (71.02-91.30)	
1 (T/C)	99	48.06 (41.10-55.10)	32	53.33 (40.10-66.14)	0	0.00 (0.00-0.00)	1	2.27 (0.12-13.51)	10	16.67 (8.70-28.98)	
2 (C/C)	36	17.48 (12.69-23.51)	7	11.67 (5.21-23.18)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	
T		58.50 (53.56-63.28)		61.67 (52.32-70.26)		100.00 (0.00-0.00)		98.86 (92.94-99.94)		91.67 (84.84-95.71)	
C		41.50 (36.72-46.44)		38.33 (29.74-47.68)		0.00 (0.00-0.00)		1.14 (0.06-7.06)		8.33 (4.29-15.16)	

(continúa...)

Tabla 4.3. (Continúa)

Polimorfismos (genotipos/alelos)		CFC-ESP (n=207) Frecuencias* n (IC95%)		HapMap-CEU (n=60) Frecuencias* n (IC95%)		HapMap-HCB (n=45) Frecuencias* n (IC95%)		HapMap-JPT (n=45) Frecuencias* n (IC95%)		HapMap-YRI (n=60) Frecuencias* n (IC95%)	
SNP10 (rs776746)		206	60	45	44	60					
0 (A/A, *1/*1)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	5	11.12 (4.16-24.85)	0	0.00 (0.00-0.00)	42	70.00 (56.63-80.80)	
1 (A/G, *1/*3)	27	13.11 (8.97-18.67)	7	11.67 (5.21-23.18)	20	44.44 (29.95-59.87)	22	50.00 (34.79-65.21)	18	30.00 (19.20-43.37)	
2 (G/G, *3/*3)	179	86.89 (81.33-91.03)	53	88.33 (76.82-94.79)	20	44.44 (29.95-59.87)	22	50.00 (34.79-65.21)	0	0.00 (0.00-0.00)	
A (*1)		6.55 (4.44-9.50)		5.83 (2.58-12.08)		33.33 (23.96-44.14)		25.00 (16.65-35.57)		85.00 (77.06-90.63)	
G (*3)		93.45 (90.50-95.56)		94.17 (87.92-97.42)		66.67 (55.86-76.04)		75.00 (64.43-83.35)		15.00 (9.37-22.94)	
SNP11 (rs5443)		207	60	45	45	60					
0 (C/C)	86	41.55 (34.82-48.60)	18	30.00 (19.20-43.37)	18	40.00 (26.06-55.63)	16	35.56 (22.29-51.28)	55	91.66 (80.89-96.89)	
1 (C/T)	96	46.38 (39.48-53.42)	26	43.33 (30.81-56.70)	16	35.56 (22.29-51.28)	17	37.78 (24.16-53.46)	4	6.67 (2.16-17.01)	
2 (T/T)	25	12.08 (8.12-17.50)	16	26.67 (16.45-39.89)	11	24.44 (13.38-39.86)	12	26.66 (15.10-42.21)	1	1.67 (0.09-10.14)	
C		64.73 (59.89-69.29)		51.67 (42.41-60.82)		57.78 (46.91-67.97)		54.44 (43.64-64.86)		95.00 (88.98-97.95)	
T		35.27 (30.71-40.11)		48.33 (39.18-57.59)		42.22 (32.03-53.09)		45.56 (35.14-56.36)		5.00 (2.05-11.02)	
SNP12 (rs2306283)		204	60	45	45	60					
0 (A/A, *1/*1)	73	35.78 (29.29-42.82)	23	38.33 (26.35-51.81)	1	2.22 (0.12-13.23)	6	13.33 (5.54-27.48)	3	5.00 (1.30-14.82)	
1 (G/A, *1/*1b)	105	51.47 (44.41-58.48)	27	45.00 (32.33-58.31)	12	26.67 (15.10-42.21)	20	44.44 (29.95-59.87)	16	26.67 (16.45-39.89)	
2 (G/G, *1b/*1b)	26	12.75 (8.65-18.30)	10	16.67 (8.70-28.98)	32	71.11 (55.48-83.16)	19	42.23 (27.99-57.76)	41	68.33 (54.91-79.40)	
A (*1)		61.52 (56.59-66.23)		60.83 (51.47-69.49)		15.56 (9.07-25.07)		35.56 (25.95-46.42)		18.33 (12.08-26.66)	
G (*1b)		38.48 (33.77-43.41)		39.17 (30.51-48.53)		84.44 (74.93-90.93)		64.44 (53.58-74.05)		81.67 (73.34-87.92)	

(continúa...)

Tabla 4.3. (Continúa)

Polimorfismos (genotipos/alelos)		CFC-ESP (n=207) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-CEU (n=60) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-HCB (n=45) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-JPT (n=45) Frecuencias* (IC95%)		HapMap-YRI (n=60) Frecuencias* (IC95%)	
n		n		n		n		n		n	
SNP13											
(rs41149056)		204		60		45		45		60	
0 (T/T, *1/*1)		152	74.51 (67.86-80.22)	42	70.00 (56.63-80.80)	32	71.11 (55.48-83.16)	38	84.44 (69.93-93.00)	59	98.33 (89.86-99.91)
1 (T/C, *1/*5)		46	22.55 (17.13-29.02)	17	28.33 (17.81-41.64)	12	26.67 (15.10-42.21)	5	11.12 (4.16-24.85)	1	1.67 (0.09-10.14)
2 (C/C, *5/*5)		6	2.94 (1.20-6.59)	1	1.67 (0.09-10.14)	1	2.22 (0.12-13.23)	2	4.44 (0.77-16.36)	0	0.00 (0.00-0.00)
T (*1)			85.78 (81.92-88.95)		84.17 (76.13-89.96)		84.44 (74.93-90.93)		90.00 (81.41-95.04)		99.17 (94.77-99.96)
C (*5)			14.22 (11.05-18.08)		15.83 (10.04-23.87)		15.56 (9.07-25.07)		10.00 (4.96-18.59)		0.83 (0.04-5.23)
SNP14											
(rs762551)		205		60		45		44		60	
0 (A/A, *1F/*1F)		88	42.93 (36.11-50.02)	29	48.33 (35.40-61.48)	19	42.22 (27.99-57.76)	17	38.64 (24.75-54.49)	19	31.67 (20.60-45.09)
1 (A/C, *1F/*1A)		92	44.88 (37.99-51.96)	25	41.67 (29.32-55.09)	22	48.89 (33.94-64.02)	20	45.45 (30.69-61.00)	30	50.00 (36.95-63.05)
2 (C/C, *1A/*1A)		25	12.20 (8.20-17.66)	6	10.00 (4.13-21.17)	4	8.89 (2.89-22.13)	7	15.91 (7.16-30.67)	11	18.33 (9.93-30.85)
A (*1F)			65.37 (60.52-69.93)		69.17 (59.99-77.10)		66.67 (55.86-76.04)		61.36 (50.35-71.37)		56.67 (47.32-65.59)
C (*1A)			34.63 (30.07-39.48)		30.83 (22.90-40.01)		33.33 (23.96-44.14)		38.64 (28.63-49.65)		43.33 (34.41-52.68)
SNP15											
(rs2241409)		205		60		45		44		60	
0 (C/C)		143	69.76 (62.90-75.86)	39	65.00 (51.52-76.55)	26	57.77 (42.24-72.01)	31	70.46 (54.60-82.75)	7	11.66 (5.21-23.18)
1 (C/T)		55	26.83 (21.01-33.54)	21	35.00 (23.45-48.48)	12	26.67 (15.10-42.21)	12	27.27 (15.45-43.04)	31	51.67 (38.52-64.60)
2 (T/T)		7	3.41 (1.50-7.19)	0	0.00 (0.00-0.00)	7	15.56 (7.00-30.07)	1	2.27 (0.12-13.51)	22	36.67 (24.90-50.15)
C			83.17 (79.11-86.59)		82.50 (74.26-88.60)		71.11 (60.45-79.94)		84.09 (74.40-90.72)		37.50 (28.97-46.84)
T			16.83 (13.41-20.89)		17.50 (11.40-25.74)		28.89 (20.06-39.55)		15.91 (9.28-25.60)		62.50 (53.16-71.03)

CEU, caucasianos de origen centroeuropeo; HCB, chinos Han de Beijin; IC95%, intervalo de confianza al 95%; JPT, japoneses de Tokio; YRI, Yorubas de Nigeria

*Todas las frecuencias alélicas y genotípicas están expresadas en %. Los valores P de la comparación de frecuencias alélicas y genotípicas entre CFC-ESP y las cuatro poblaciones del Proyecto HapMap se pueden ver en la Tabla 4.4.

El único polimorfismo del gen *CYP1A2* analizado fue el SNP14 (rs762551 C>A o *1A>*1F). Para éste los homocigotos para el alelo C (CC o *1A/*1A), los heterocigotos (CA o *1A/*1F) y los homocigotos para el alelo A (AA o *1F/*1F) fueron 25, 92 y 88, respectivamente, siendo dos los individuos cuyo genotipo no pudo ser determinado.

Por último, el único polimorfismo del gen *CES2* analizado fue el SNP15 (rs2241409 C>T). Para éste los homocigotos para el alelo silvestre (CC), los heterocigotos (CT) y los homocigotos para el alelo mutado (TT) fueron 143, 55 y 7, respectivamente, siendo dos los individuos cuyo genotipo no pudo ser determinado.

Tabla 4.4. Valores *P* de la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas entre los voluntarios del CFC-ESP con las de las cuatro poblaciones del Proyecto HapMap.

SNP	CFC-ESP (n=207) vs.							
	HapMap-CEU* (n=60)		HapMap-HCB* (n=45)		HapMap-JPT* (n=45)		HapMap-YRI* (n=60)	
	Alelos ^a	Genotipos ^b	Alelos ^a	Genotipos ^b	Alelos ^a	Genotipos ^b	Alelos ^a	Genotipos ^b
SNP1	>0.05	>0.05	1.20E-05	6.83E-06	1.39E-08	1.05E-08	0.0389	0.0302
SNP2	>0.05	>0.05	0.0089	0.0080	0.0005	0.0003	6.27E-07	5.02E-07
SNP3	>0.05	>0.05	0.0028	0.0041	0.0028	0.0029	0.0029	0.0034
SNP4	>0.05	>0.05	0.0032	0.0027	>0.05	>0.05	0.0159	0.0172
SNP5	0.0132	0.0183	1.14E-09	5.23E-09	3.54E-12	6.47E-11	5.49E-13	2.11E-11
SNP6	0.0132	0.0183	7.86E-10	3.40E-09	4.92E-12	9.58E-11	5.49E-13	2.11E-11
SNP7	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	2.81E-09	9.36E-09
SNP8	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	1.57E-09	1.27E-08
SNP9	>0.05	>0.05	3.72E-13	7.72E-12	1.84E-12	2.82E-11	5.94E-11	3.84E-10
SNP10	>0.05	>0.05	1.61E-12	9.27E-12	5.08E-07	8.77E-08	4.45E-69	2.71E-45
SNP11	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	3.85E-30	2.58E-24
SNP12	>0.05	>0.05	4.00E-05	1.00E-05	6.76E-06	5.26E-06	8.64E-17	1.25E-15
SNP13	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	0.0002	0.0004
SNP14	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP15	>0.05	>0.05	0.0331	>0.05	>0.05	>0.05	1.80E-22	3.41E-19

*CEU, caucasianos de origen centroeuropeo; HCB, chinos Han de Beijín; JPT, japoneses de Tokio; YRI, Yorubas de Nigeria

^a χ^2

^b Test de tendencia de Armitage

Antes de proceder a la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas entre los individuos de nuestra población de estudio (CFC-ESP) y los caucasianos norteamericanos de origen centroeuropeo (CEU) del Proyecto HapMap comparamos los porcentajes de individuos con genotipo válido, es decir, no indeterminado, entre ambas poblaciones. Una diferencia en el éxito del genotipado podría derivar en una diferencia espuria en las frecuencias alélicas y genotípicas entre ambas poblaciones. Tal y como puede comprobarse en la **Tabla A2.1** del **Anexo 2** (pág. A28), no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de individuos con genotipo válido entre ambas poblaciones en ninguno de los 15 polimorfismos analizados. El porcentaje de genotipos válidos en nuestra población de estudio (CFC-ESP) fue siempre mayor del 98% frente al 96% de la población HapMap-CEU.

En la **Tabla 4.4** se muestra el resultado de la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de nuestra población de estudio (CFC-ESP) con las de las cuatro poblaciones del Proyecto HapMap. Sólo dos de los 15 polimorfismos analizados presentaron una frecuencia alélica y genotípica estadísticamente diferente respecto a la población de caucasianos norteamericanos de origen centroeuropeo (CEU) del Proyecto HapMap (HapMap-CEU). Se trata de los SNP5 y 6 del gen *NR1I2*. La frecuencia alélica del alelo mutado fue para ambos polimorfismos casi un 11% (16.91 vs 6.03%) más elevada en nuestra población que en la HapMap-CEU. El porcentaje de portadores tanto heterocigotos como homocigotos del alelo mutado fue un 14% (26.09 vs 12.07%) y casi un 4% (3.86 vs 0%), respectivamente, más elevado en nuestra población (CFC-ESP) que en la de HapMap-CEU.

Al comparar nuestra población (CFC-ESP) con la población de chinos *Han* de Beijín de HapMap (HapMap-HCB) 9 (SNP1-6 y SNP9, SNP10 y SNP12) de los 15 polimorfismos analizados presentaron unas diferencias estadísticamente significativas en sus frecuencias alélicas y genotípicas. La comparación con los japoneses de Tokio (HapMap-JPT) reveló que los polimorfismos cuyas frecuencias alélicas y genotípicas resultaron estadísticamente diferentes de los de la nuestra población eran 7 (SNP1-3, 5, 6, 9 y 10). Con respecto a la población de africanos *Yorubas* de Nigeria (HapMap-YRI) todos los polimorfismos presentaron unas frecuencias alélicas y genotípicas estadísticamente diferentes a excepción del SNP14.

De este modo, el número de polimorfismos con frecuencias alélicas y genotípicas estadísticamente diferentes entre muestra población de estudio (CFC-ESP) y las cuatro poblaciones de HapMap (CEU, HCB, JPT y YRI) fueron de 2, 10, 8 y 14, respectivamente.

4.2.2.2.- Comparación con otras poblaciones españolas

Las frecuencias alélicas y genotípicas de sólo 5 de los 15 polimorfismos analizados en nuestro estudio han sido hasta la fecha descritas en varias poblaciones españolas y publicadas en la literatura.

En la **Tabla 4.5** se describen las frecuencias alélicas y genotípicas de estos polimorfismos descritas por 7 estudios en las poblaciones españolas de Badajoz, Madrid, Zaragoza y Barcelona.

Para el SNP4 del gen *NR1I2* Martínez y cols. (2007) analizaron sus frecuencias alélicas y genotípicas en el contexto de un estudio de casos y controles en el cual el grupo de referencia constaba de 550 controles sanos (51% mujeres) fundamentalmente donantes de sangre y personal del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Tres fueron los estudios que describían la frecuencia alélica y genotípica del SNP8 del gen *ABCB1*. En su estudio Bernal y cols. (2003) describía estas frecuencias en 408 voluntarios sanos no relacionados de Zaragoza. Por su parte, Urcelay y cols. (2006) lo hacía en 324 controles sanos (61% mujeres) fundamentalmente donantes de sangre y personal del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Por último, Gervasini y cols. (2007) describía estas frecuencias en 177 voluntarios sanos (55% mujeres) estudiantes y personal de la Facultad de Medicina de la Universidad de Extremadura en Badajoz. El mismo autor describía, también, en la misma población, las frecuencias alélicas y genotípicas del SNP10 del gen *CYP3A5*. El mismo polimorfismo fue analizado por Sinues y cols. (2007) en 204 voluntarios sanos (55% mujeres) seleccionados de forma aleatoria de entre los estudiantes y el personal de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza.

Tabla 4.5. Frecuencias genotípicas y alélicas de los 5 SNPs en la población de estudio (CFC-ESP) y en varias poblaciones españolas.

Polimorfismo			CFC-ESP			Martínez et al. (2007)^a		
(genotipos/alelos)	n		Frecuencias* (IC95%)	n		Frecuencias* (IC95%)		
SNP4 (rs3814055)	204		Madrid	550		Madrid		
0 (C/C)	69		33.82 (27.45-40.81)	219		39.82 (35.72-44.06)		
1 (C/T)	102		50.00 (42.96-57.04)	242		44.00 (39.82-48.27)		
2 (T/T)	33		16.18 (11.55-22.12)	89		16.18 (13.26-19.59)		
C			58.82 (53.86-63.61)			61.82 (58.87-64.69)		
T			41.18 (36.39-46.14)			38.18 (35.31-41.13)		
Polimorfismo			CFC-ESP			Bernal et al. (2003)^b		
(genotipos/alelos)	n		Frecuencias* (IC95%)	n		Frecuencias* (IC95%)	n	
SNP8 (rs1045642)	206		Madrid	408		Zaragoza	324	Madrid
0 (C/C)	71		34.47 (28.09-41.44)	106		25.98 (21.85-30.57)	97	29.94 (25.07-35.30)
1 (C/T)	96		46.60 (39.68-53.65)	212		51.96 (46.99-56.89)	150	46.29 (40.79-51.89)
2 (T/T)	39		18.93 (13.96-25.09)	90		22.06 (18.19-26.46)	77	23.77 (19.32-28.86)
C			57.77 (52.83-62.56)			51.96 (48.47-55.43)		53.09 (49.16-56.98)
T			42.23 (37.44-47.17)			48.04 (44.57-51.53)		46.91 (43.02-50.84)
Polimorfismo			CFC-ESP			Gervasini et al. (2007)^d		
(genotipos/alelos)	n		Frecuencias* (IC95%)	n		Frecuencias* (IC95%)	n	
SNP10 (rs776746)	206		Madrid	177		Badajoz**	204	Zaragoza
0 (A/A, *1/*1)	0		0.00 (0.00-0.00)	5		2.82 (1.04-6.81)	2	0.98 (0.17-3.87)
1 (A/G, *1/*3)	27		13.11 (8.97-18.67)	22		12.43 (8.12-18.42)	31	15.20 (10.71-21.04)
2 (G/G, *3/*3)	179		86.89 (81.33-91.03)	150		84.75 (78.41-89.54)	171	83.82 (77.88-88.45)
A (*1)			6.55 (4.44-9.50)			9.04 (6.36-12.64)		8.58 (6.13-11.84)
G (*3)			93.45 (90.50-95.56)			90.96 (87.36-93.64)		91.42 (88.16-93.87)

(continúa...)

Tabla 4.5. (Continúa)

Polimorfismo (genotipos/alelos)		CFC-ESP Frecuencias* (IC95%)		Bullido et al. (2004)^f Frecuencias* (IC95%)	
SNP11 (rs5443)	207	Madrid	173	Madrid	
0 (C/C)	86	41.55 (34.82-48.60)	75	43.35 (35.91-51.09)	
1 (C/T)	96	46.38 (39.48-53.42)	71	41.04 (33.71-48.78)	
2 (T/T)	25	12.08 (8.12-17.50)	27	15.61 (10.71-22.08)	
C		64.73 (59.89-69.29)		63.87 (58.53-68.89)	
T		35.27 (30.71-40.11)		36.13 (31.11-41.47)	
Polimorfismo (genotipos/alelos)					
SNP14 (rs762551)	205	Madrid	321	Barcelona	
0 (A/A, *1F/*1F)	88	42.93 (36.11-50.02)	158	49.22 (43.64-54.82)	
1 (A/C, *1F/*1A)	92	44.88 (37.99-51.96)	137	42.68 (37.24-48.30)	
2 (C/C, *1A/*1A)	25	12.20 (8.20-17.66)	26	8.10 (5.46-11.78)	
A (*1F)		65.37 (60.52-69.93)		70.56 (66.84-74.03)	
C (*1A)		34.63 (30.07-39.48)		29.44 (25.97-33.16)	

* Todas las frecuencias alélicas y genotípicas están expresadas en %. Los valores P de la comparación de frecuencias alélicas y genotípicas entre CFC-ESP y las distintas poblaciones españolas se pueden ver en la Tabla 4.6.

** No cumple el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0.0065$, test exacto de Fisher). Todos los demás lo cumplen.

^a Controles sanos (51% mujeres) fundamentalmente donantes de sangre y personal del Hospital Clínico San Carlos (Madrid), ref. (Martínez y cols., 2007).

^b Voluntarios sanos no relacionados con una edad media de 41.6 años (rango: 18-65); ref. (Bernal y cols., 2003).

^c Controles sanos (61% mujeres) fundamentalmente donantes de sangre y personal del Hospital Clínico San Carlos (Madrid); ref. (Urcelay y cols., 2006).

^d Voluntarios sanos (55% mujeres) estudiantes y personal de la Facultad de Medicina de la Universidad de Extremadura (Badajoz); ref. (Gervasini y cols., 2007).

^e Voluntarios sanos (48% mujeres) con una edad media de 27.3 años (rango: 19-53) seleccionados de forma aleatoria de entre los estudiantes y el personal de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza; ref. (Sinues y cols., 2007).

^f Controles sanos (edad media 73.3±5.3 años) de los servicios de Neurología de los Hospitales La Paz y Clínico San Carlos de Madrid; ref. (Bullido y cols., 2004).

^g Controles sin cáncer representativos de la población general, seleccionados aleatoriamente de entre los pacientes ingresados en el Hospital de Bellvitge (Barcelona) durante el mismo periodo de tiempo; ref. (Landi y cols., 2005).

Tabla 4.6. Valores *P* de la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas entre los voluntarios del CFC-ESP con las distintas poblaciones españolas.

SNP	CFC-ESP vs.					
	Martínez <i>et al.</i> (2007) ^c					
	Alelos ^a	Genotipos ^b				
SNP4	0.2895	0.2992				
	Bernal <i>et al.</i> (2003) ^d		Urcelay <i>et al.</i> (2006) ^e		Gervasini <i>et al.</i> (2007) ^f	
	Alelos ^a	Genotipos ^b	Alelos ^a	Genotipos ^b	Alelos ^a	Genotipos ^b
SNP8	0.0539	0.0528	0.1355	0.1476	0.0315	0.0338
	Gervasini <i>et al.</i> (2007) ^f		Sinues <i>et al.</i> (2007) ^g			
	Alelos ^a	Genotipos ^b	Alelos ^a	Genotipos ^b		
SNP10	0.1982	0.2200	0.2728	0.2699		
	Bullido <i>et al.</i> (2004) ^h					
	Alelos ^a	Genotipos ^b				
SNP11	0.8050	0.8089				
	Landi <i>et al.</i> (2005) ⁱ					
	Alelos ^a	Genotipos ^b				
SNP14	0.0768	0.0754				

^a χ^2 ^b Test de tendencia de Armitage^c Ref. (Martínez y cols., 2007).^d Ref. (Bernal y cols., 2003).^e Ref. (Urcelay y cols., 2006).^f Ref. (Gervasini y cols., 2007).^g Ref. (Sinues y cols., 2007).^h Ref. (Bullido y cols., 2004).ⁱ Ref. (Landi y cols., 2005).

Nota: No se detectaron diferencias significativas en las frecuencias alélicas ni genotípicas entre los tres estudios del SNP8, ni entre los dos estudios del SNP10.

Las frecuencias alélicas y genotípicas del SNP11 del gen *GNB3* fueron descritas por Bullido y cols. (2004) en 173 controles sanos de los Servicios de Neurología de los Hospitales La Paz y Clínico San Carlos de Madrid. Por su parte Landi y cols. (2005) describía las frecuencias del SNP14 del gen *CYP1A2* en 321 controles sin cáncer representativos de la población general, seleccionados aleatoriamente de entre los pacientes ingresados en el Hospital de Bellvitge de Barcelona.

En la **Tabla 4.6** se describen los valores *P* de la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de los 5 polimorfismos entre nuestra población de estudio (CFC-ESP) y las distintas poblaciones españolas. La única diferencia que resultó estadísticamente significativa fue la relativa a la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas del SNP8 entre nuestra población de estudio y la población de Badajoz (Gervasini y cols., 2007). La frecuencia del alelo mutado en nuestra población fue un 8% más baja. Del mismo modo el porcentaje de portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado en nuestra población fue un 6 y un 4% más bajo, respectivamente. No se detectaron diferencias significativas en las

frecuencias alélicas ni genotípicas entre los tres estudios del SNP8, ni entre los dos estudios del SNP10.

4.2.2.3.- Comparación con las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA)

Al comparar las frecuencias alélicas y genotípicas de los 15 polimorfismos analizados entre la población de estudio (CFC-ESP, n=207) con cada una de las subpoblaciones correspondientes a las tres estatinas estudiadas, lovastatina (3-LOVs, n=100), simvastatina (84-SIM, n=36) y pravastatina (91-PRA, n=36), no se detectaron diferencias estadísticamente significativas.

4.2.2.4.- Comparación entre hombres y mujeres

En la **Tabla 4.7** se describen las frecuencias alélicas y genotípicas de los 15 SNPs en ambos sexos de la población de estudio (CFC-ESP) y de las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA) y en la **Tabla 4.8** los valores *P* de la comparación entre hombres y mujeres. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de individuos con genotipo válido entre ambos sexos en ninguno de los 15 polimorfismos analizados en la población de estudio o las tres subpoblaciones (**Tablas A2.2 - A2.5**, pág. A29 - A32).

En nuestra población de estudio (CFC-ESP) fueron tres los polimorfismos con una frecuencia alélica y genotípica estadísticamente diferente entre ambos sexos. La frecuencia alélica de alelo mutado del SNP2 del gen *NR1I3* fue casi un 10% más alta en hombres que en mujeres. En cambio, la frecuencia alélica de alelo mutado del SNP3, del mismo gen, fue un 11% más baja en hombres. En el caso del SNP11 del gen *GNB3* la frecuencia alélica de alelo mutado, también, fue un 11% más baja en hombres.

En los voluntarios que participaron en ensayos clínicos de bioequivalencia con lovastatina (3-LOVs) sólo se detectaron diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en dos de los 15 polimorfismos analizados. La frecuencia alélica de alelo mutado del SNP2 del gen *NR1I3* fue casi un 17% más alta en hombres que en mujeres. En cambio, la frecuencia alélica de alelo mutado del SNP3, del mismo gen, fue un 21% más baja en hombres.

Tabla 4.7. Frecuencias genotípicas y alélicas de los 15 SNPs en ambos sexos de la población de estudio (CFC-ESP) y de las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA).

Polimorfismos (genotipos/alelos)	CFC-ESP (n=207)				3-LOVs (n=100)				84-SIM (n=36)				91-PRA (n=36)			
	Hombres (n=106) Frecuencias* (IC95%)	n	Mujeres (n=101) Frecuencias* (IC95%)	n	Hombres (n=51) Frecuencias* (IC95%)	n	Mujeres (n=49) Frecuencias* (IC95%)	n	Hombres (n=18) Frecuencias* (IC95%)	n	Mujeres (n=18) Frecuencias* (IC95%)	n	Hombres (n=18) Frecuencias* (IC95%)	n	Mujeres (n=18) Frecuencias* (IC95%)	n
SNP1 (rs4073054)	106	37.74 (28.66-47.72)	42.58 (32.91-52.80)	101	51	35.29 (22.80-49.99)	44.90 (30.94-59.66)	49	18	44.44 (22.40-68.65)	44.44 (22.40-68.65)	18	18	44.44 (22.40-68.65)	44.44 (22.40-68.65)	18
0 (T/T)	40	54.72 (44.78-64.31)	44.55 (34.77-54.75)	43	18	56.86 (42.32-70.37)	40.82 (27.32-55.75)	22	8	50.00 (26.77-73.23)	44.44 (22.40-68.65)	8	8	50.00 (26.77-73.23)	50.00 (26.77-73.23)	7
1 (T/G)	58	7.54 (3.55-14.78)	12.87 (7.30-21.36)	45	29	7.85 (2.54-19.75)	14.28 (6.41-27.86)	20	9	5.56 (0.29-29.38)	11.12 (1.95-36.07)	8	9	5.56 (0.29-29.38)	5.56 (0.29-29.38)	8
2 (G/G)	8	65.09 (58.22-71.41)	64.85 (57.79-71.33)	13	4	63.73 (53.56-72.85)	65.31 (54.95-74.45)	7	1	69.44 (51.73-83.08)	66.67 (48.95-80.90)	2	1	69.44 (51.73-83.08)	66.67 (48.95-80.90)	3
T		34.91 (28.59-41.78)	35.15 (28.67-42.21)			36.27 (27.15-46.44)	34.69 (25.55-45.05)			30.56 (16.92-48.27)	33.33 (19.10-51.05)			30.56 (16.92-48.27)	33.33 (19.10-51.05)	
G																
SNP2 (rs2307424)	105	35.24 (26.34-45.24)	46.54 (36.64-56.69)	101	50	30.00 (18.29-44.78)	53.06 (38.42-67.22)	49	18	33.33 (14.35-58.84)	50.00 (26.77-73.23)	18	18	33.33 (14.35-58.84)	33.33 (14.35-58.84)	18
0 (C/C)	37	49.52 (39.69-59.39)	47.52 (37.58-57.65)	47	15	50.00 (35.72-64.28)	38.78 (25.55-53.76)	26	6	50.00 (26.77-73.23)	44.44 (22.40-68.65)	9	6	44.44 (22.40-68.65)	44.44 (22.40-68.65)	11
1 (C/T)	52	15.24 (9.23-23.87)	5.94 (2.44-12.99)	48	25	20.00 (10.50-34.14)	8.16 (2.65-20.48)	19	9	15.67 (4.41-42.27)	5.56 (0.29-29.38)	8	8	15.67 (4.41-42.27)	5.56 (0.29-29.38)	4
2 (T/T)	16	60.00 (53.01-66.62)	70.30 (63.41-76.40)	6	10	55.00 (44.75-64.86)	72.45 (62.35-80.76)	4	3	58.33 (40.88-74.04)	72.22 (54.57-85.21)	1	4	58.33 (40.88-74.04)	72.22 (54.57-85.21)	3
C		40.00 (33.38-45.99)	29.70 (23.60-36.59)			45.00 (35.14-55.25)	27.55 (19.24-37.65)			41.67 (25.96-59.12)	27.78 (14.79-45.43)			41.67 (25.96-59.12)	27.78 (14.79-45.43)	
T																
SNP3 (rs2502815)	105	63.81 (53.80-72.80)	48.52 (38.52-58.61)	101	50	74.00 (59.39-84.92)	44.90 (30.94-59.66)	49	18	65.67 (41.16-85.65)	44.44 (22.40-68.65)	18	18	65.67 (41.16-85.65)	61.11 (36.14-81.74)	18
0 (C/C)	67	32.38 (23.76-42.31)	40.59 (31.07-50.83)	49	37	24.00 (13.52-38.49)	38.78 (25.55-53.76)	22	12	27.78 (10.71-53.60)	44.44 (22.40-68.65)	8	11	38.89 (18.26-63.86)	38.89 (18.26-63.86)	10
1 (C/T)	34	3.81 (1.23-10.03)	10.89 (5.83-19.04)	41	12	2.00 (0.10-12.01)	16.32 (7.80-30.21)	19	5	5.55 (0.29-29.38)	11.12 (1.95-36.07)	8	7	0.00 (0.00-0.00)	0.00 (0.00-0.00)	6
2 (T/T)	4	80.00 (73.82-85.06)	68.81 (61.86-75.03)	11	1	86.00 (77.29-91.86)	64.29 (53.91-73.53)	8	1	80.56 (63.44-91.20)	66.67 (48.95-80.90)	2	0	80.56 (63.44-91.20)	80.56 (48.95-80.90)	2
C		20.00 (14.94-25.18)	31.19 (24.97-38.14)			14.00 (8.14-22.71)	35.71 (26.47-46.09)			19.44 (8.80-36.56)	33.33 (19.10-51.05)			19.44 (8.80-36.56)	33.33 (19.10-51.05)	
T																

(continúa...)

Tabla 4.7. (Continúa)

CFC-ESP (n=207)																3-LOVs (n=100)						84-SIM (n=36)						91-PRA (n=36)					
Polimorfismos (genotipos/alelos)		Hombres (n=106) Frecuencias* (IC95%)		Mujeres (n=101) Frecuencias* (IC95%)		Hombres (n=51) Frecuencias* (IC95%)		Mujeres (n=49) Frecuencias* (IC95%)		Hombres (n=106) Frecuencias* (IC95%)		Mujeres (n=101) Frecuencias* (IC95%)		Hombres (n=51) Frecuencias* (IC95%)		Mujeres (n=49) Frecuencias* (IC95%)																	
n		n		n		n		n		n		n		n		n																	
SNP4 (rs3814055)																																	
0 (C/C)	37	35.58 (26.61-45.63)	32	32.00 (23.22-42.18)	16	32.65 (20.36-47.65)	14	29.17 (17.40-44.26)	7	38.89 (18.26-63.86)	7	38.89 (18.26-63.86)	5	29.42 (11.38-55.95)	5	27.78 (10.71-53.60)																	
1 (C/T)	52	50.00 (40.10-59.90)	50	50.00 (39.90-60.10)	25	51.02 (36.52-65.36)	26	54.17 (39.31-68.37)	10	55.56 (31.35-77.60)	10	55.56 (31.35-77.60)	6	35.29 (15.26-61.38)	8	44.44 (22.40-68.65)																	
2 (T/T)	15	14.42 (8.56-22.99)	18	18.00 (11.30-27.22)	8	16.33 (7.80-30.21)	8	16.66 (7.97-30.77)	1	5.55 (0.29-29.38)	1	5.55 (0.29-29.38)	6	35.29 (15.26-61.38)	5	27.78 (10.71-53.60)																	
C		60.58 (53.56-67.20)		57.00 (49.82-63.91)		58.16 (46.75-66.96)		56.25 (45.75-66.23)		66.67 (48.95-80.90)		66.67 (48.95-80.90)		47.06 (30.16-64.60)		50.00 (33.22-66.78)																	
T		39.42 (32.80-46.44)		43.00 (36.09-50.18)		41.84 (32.09-52.24)		43.75 (33.77-54.24)		33.33 (19.10-51.05)		33.33 (19.10-51.05)		52.94 (35.40-69.84)		50.00 (33.22-66.78)																	
SNP5 (rs3814057)																																	
0 (A/A)	74	69.81 (60.01-78.15)	71	70.30 (60.26-78.77)	35	68.63 (53.97-80.49)	29	59.18 (44.25-72.68)	11	61.11 (36.14-81.74)	14	77.78 (51.92-92.63)	14	77.78 (51.92-92.63)	12	66.67 (41.16-85.65)																	
1 (A/C)	28	26.42 (18.55-36.03)	26	25.74 (17.79-35.57)	16	31.37 (19.51-46.03)	19	38.78 (25.55-53.76)	6	33.33 (14.35-58.84)	3	16.67 (4.41-42.27)	2	11.11 (1.95-36.07)	5	27.78 (10.71-53.60)																	
2 (C/C)	4	3.77 (1.21-9.94)	4	3.96 (1.28-10.41)	0	0.00 (0.00-0.00)	1	2.04 (0.11-12.24)	1	5.56 (0.29-29.38)	1	5.55 (0.29-29.38)	2	11.11 (1.95-36.07)	1	5.55 (0.29-29.38)																	
A		83.02 (77.13-87.68)		83.17 (77.13-87.91)		84.31 (74.37-89.72)		78.57 (68.89-85.96)		77.78 (60.42-89.28)		86.11 (69.71-94.77)		83.33 (66.53-93.03)		80.56 (63.44-91.20)																	
C		16.98 (12.32-22.87)		16.83 (12.09-22.87)		15.69 (9.51-24.53)		21.43 (14.04-31.11)		22.22 (10.72-39.58)		13.89 (5.23-30.29)		16.67 (6.97-33.47)		19.44 (8.80-36.56)																	
SNP6 (rs3814058)																																	
0 (T/T)	74	69.81 (60.01-78.15)	71	70.30 (60.26-78.77)	36	70.59 (55.99-82.09)	29	59.18 (44.25-72.68)	11	61.11 (36.14-81.74)	14	77.78 (51.92-92.63)	13	72.22 (46.40-89.29)	12	66.67 (41.16-85.65)																	
1 (T/C)	28	26.42 (18.55-36.03)	26	25.74 (17.79-35.57)	15	29.41 (17.91-44.01)	19	38.78 (25.55-53.76)	6	33.33 (14.35-58.84)	3	16.67 (4.41-42.27)	3	16.67 (4.41-42.27)	5	27.78 (10.71-53.60)																	
2 (C/C)	4	3.77 (1.21-9.94)	4	3.96 (1.28-10.41)	0	0.00 (0.00-0.00)	1	2.04 (0.11-12.24)	1	5.56 (0.29-29.38)	1	5.55 (0.29-29.38)	2	11.11 (1.95-36.07)	1	5.55 (0.29-29.38)																	
T		83.02 (77.13-87.68)		83.17 (77.13-87.91)		85.29 (75.47-90.49)		78.57 (68.89-85.96)		77.78 (60.42-89.28)		86.11 (69.71-94.77)		80.56 (63.44-91.20)		80.56 (63.44-91.20)																	
C		16.98 (12.32-22.87)		16.83 (12.09-22.87)		14.71 (8.74-23.42)		21.43 (14.04-31.11)		22.22 (10.72-39.58)		13.89 (5.23-30.29)		19.44 (8.80-36.56)		19.44 (8.80-36.56)																	

(continúa...)

Tabla 4.7. (Continúa)

Polimorfismos (genotipos/alelos)	CFC-ESP (n=207)				3-LOVs (n=100)				84-SIM (n=36)				91-PRA (n=36)			
	Hombres (n=106) Frecuencias* (IC95%)	n	Mujeres (n=101) Frecuencias* (IC95%)	n	Hombres (n=51) Frecuencias* (IC95%)	n	Mujeres (n=49) Frecuencias* (IC95%)	n	Hombres (n=106) Frecuencias* (IC95%)	n	Mujeres (n=101) Frecuencias* (IC95%)	n	Hombres (n=51) Frecuencias* (IC95%)	n	Mujeres (n=49) Frecuencias* (IC95%)	n
SNP7 (rs2235048)	104	101	101	101	49	49	49	49	18	18	18	18	18	18	18	18
0 (C/C)	23 (14.81-31.53)	12	11.88 (6.56-20.21)	10	20.41 (10.73-34.76)	7	14.29 (6.41-27.86)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	38.89 (18.26-63.86)	2	11.11 (1.95-36.07)	2
1 (C/T)	44 (32.81-52.39)	57	56.44 (46.22-66.16)	18	36.73 (23.79-51.74)	25	51.02 (36.52-65.36)	13	72.22 (46.40-89.29)	13	72.22 (46.40-89.29)	6	33.33 (14.35-58.84)	14	77.78 (51.92-92.63)	14
2 (T/T)	37 (26.61-45.63)	32	31.68 (22.98-41.79)	21	42.86 (29.12-57.71)	17	34.69 (22.06-49.71)	5	27.78 (10.71-53.60)	5	27.78 (10.71-53.60)	5	27.78 (10.71-53.60)	2	11.11 (1.95-36.07)	2
C	43.27 (36.49-50.31)		40.10 (33.35-47.23)		38.78 (29.26-49.19)		39.80 (30.20-50.21)		36.11 (21.34-53.79)		36.11 (21.34-53.79)		55.56 (38.29-71.67)		50.00 (33.22-66.78)	
T	56.73 (49.69-63.51)		59.90 (52.77-66.65)		61.22 (50.81-70.74)		60.20 (49.79-69.80)		63.89 (46.21-78.66)		63.89 (46.21-78.66)		44.44 (28.33-61.71)		50.00 (33.22-66.78)	
SNP8 (rs1045642)	105	101	101	101	51	49	49	49	18	18	18	18	17	18	18	18
0 (C/C)	37 (26.34-45.24)	34	33.66 (24.75-43.83)	21	41.18 (27.89-55.79)	18	36.73 (23.79-51.74)	6	33.33 (14.35-58.84)	5	27.78 (10.71-53.60)	4	23.53 (7.82-50.24)	3	16.67 (4.41-42.27)	3
1 (C/T)	44 (32.47-51.93)	52	51.49 (41.39-61.48)	20	39.22 (26.18-53.88)	24	48.98 (34.64-63.48)	11	61.11 (36.14-81.74)	9	50.00 (26.77-73.23)	6	35.29 (15.26-61.38)	13	72.22 (46.40-89.29)	13
2 (T/T)	24 (15.47-32.28)	15	14.85 (8.82-23.63)	10	19.60 (10.29-33.55)	7	14.29 (6.41-27.86)	1	5.56 (0.29-29.38)	4	22.22 (7.37-48.08)	7	41.18 (19.43-66.55)	2	11.11 (1.95-36.07)	2
C	56.19 (49.19-62.96)		59.41 (52.27-66.18)		60.78 (50.59-70.15)		61.22 (50.81-70.74)		63.89 (46.21-78.66)		63.89 (46.21-78.66)		41.18 (25.13-59.17)		52.78 (35.74-69.24)	
T	43.81 (37.04-50.81)		40.59 (33.82-47.73)		39.22 (29.85-49.41)		38.78 (29.26-49.19)		35.11 (21.34-53.79)		35.11 (21.34-53.79)		58.82 (40.83-74.87)		47.22 (30.76-64.26)	
SNP9 (rs10487132)	105	101	101	101	50	49	49	49	18	18	18	18	18	18	18	18
0 (T/T)	40 (28.95-48.13)	31	30.70 (22.10-40.77)	11	22.00 (11.99-36.33)	14	28.57 (17.03-43.47)	7	38.89 (18.26-63.86)	5	27.78 (10.71-53.60)	13	72.22 (46.40-89.29)	7	38.89 (18.26-63.86)	7
1 (T/C)	50 (37.87-57.55)	49	48.51 (38.52-58.61)	33	66.00 (51.14-78.41)	23	46.94 (32.78-61.58)	9	50.00 (26.77-73.23)	9	50.00 (26.77-73.23)	4	22.22 (7.37-48.08)	7	38.89 (18.26-63.86)	7
2 (C/C)	15 (8.48-22.79)	21	20.79 (13.61-30.24)	6	12.00 (4.97-25.00)	12	24.49 (13.81-39.18)	2	11.11 (1.95-36.07)	4	22.22 (7.37-48.08)	1	5.56 (0.29-29.38)	4	22.22 (7.37-48.08)	4
T	61.90 (54.93-68.42)		54.95 (47.81-61.89)		55.00 (43.78-63.91)		52.04 (41.77-62.15)		63.89 (46.21-78.66)		63.89 (46.21-78.66)		83.33 (66.53-93.03)		58.33 (40.88-74.04)	
C	38.10 (31.58-45.07)		45.05 (38.11-52.19)		45.00 (35.14-55.25)		47.96 (37.85-58.23)		35.11 (21.34-53.79)		35.11 (21.34-53.79)		16.67 (6.97-33.47)		41.67 (25.96-59.12)	

(continúa...)

Tabla 4.7. (Continúa)

		CFC-ESP (n=207)				3-LOVs (n=100)				84-SIM (n=36)				91-PRA (n=36)			
Polimorfismos (genotipos/alelos)		Hombres (n=106)	Mujeres (n=101)	Frecuencias* (IC95%)	n	Hombres (n=51)	Mujeres (n=49)	Frecuencias* (IC95%)	n	Hombres (n=106)	Mujeres (n=101)	Frecuencias* (IC95%)	n	Hombres (n=51)	Mujeres (n=49)	Frecuencias* (IC95%)	n
SNP10 (rs776746)		106	100			51	48			18	17			18	17		
0 (A/A, *1/*1)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	0
1 (A/G, *1/*3)	16	15.09 (9.13-23.65)	11	11.00 (5.89-19.22)	6	11.76 (4.87-24.55)	5	10.42 (3.90-23.45)	4	22.22 (7.37-48.08)	1	5.88 (0.31-30.76)	1	5.56 (0.29-29.38)	0	0.00 (0.00-0.00)	0
2 (G/G, *3/*3)	90	84.91 (76.35-90.87)	89	89.00 (80.78-94.11)	45	88.24 (75.45-95.13)	43	89.58 (76.55-96.10)	14	77.78 (51.92-92.63)	16	94.12 (69.24-99.69)	17	94.44 (70.62-99.71)	17	100.00 (77.08-100.00)	17
A (*1)		7.55 (4.52-12.19)		5.50 (2.92-9.89)		5.88 (2.41-12.87)		5.21 (1.93-12.30)		11.11 (3.62-27.00)		2.94 (0.15-16.21)		2.78 (0.15-16.21)		0.00 (0.00-0.00)	
G (*3)		92.45 (87.81-95.48)		94.50 (90.11-97.08)		94.12 (87.13-97.59)		94.79 (87.70-98.07)		88.89 (73.00-96.38)		97.06 (82.95-99.85)		97.22 (83.79-99.85)		100.00 (87.36-100.00)	
SNP11 (rs5443)		106	101			51	49			18	18			18	18		
0 (C/C)	51	48.12 (38.38-57.98)	35	34.66 (25.64-44.84)	26	50.98 (36.77-65.05)	22	44.90 (30.94-59.56)	8	44.44 (22.40-68.65)	8	44.44 (22.40-68.65)	6	33.33 (14.35-58.84)	4	22.22 (7.37-48.08)	4
1 (C/T)	48	45.28 (35.69-55.22)	48	47.52 (37.58-57.65)	21	41.18 (27.89-55.79)	19	38.78 (25.55-53.76)	10	55.56 (31.35-77.60)	8	44.44 (22.40-68.65)	10	55.56 (31.35-77.60)	12	66.67 (41.16-85.65)	12
2 (T/T)	7	6.60 (2.92-13.60)	18	17.82 (11.18-26.97)	4	7.84 (2.54-19.75)	8	16.32 (7.80-30.21)	0	0.00 (0.00-0.00)	2	11.12 (1.95-36.07)	2	11.11 (1.95-36.07)	2	11.11 (1.95-36.07)	2
C		70.75 (64.06-76.68)		58.42 (51.28-65.23)		71.57 (62.67-80.70)		64.29 (53.91-73.53)		72.22 (54.57-85.21)		66.67 (48.95-80.90)		61.11 (43.53-76.37)		55.56 (38.29-71.67)	
T		29.25 (23.32-35.94)		41.58 (34.77-48.72)		28.43 (20.15-38.36)		35.71 (26.47-46.09)		27.78 (14.79-45.43)		33.33 (19.10-51.05)		38.89 (23.63-56.47)		44.44 (28.33-61.71)	
SNP12 (rs2306283)		104	100			50	48			18	18			17	18		
0 (A/A, *1/*1)	36	34.62 (25.74-44.66)	37	37.00 (27.73-47.29)	21	42.00 (28.49-56.73)	17	35.42 (22.55-50.51)	4	22.22 (7.37-48.08)	8	44.44 (22.40-68.65)	4	23.53 (7.82-50.24)	6	33.33 (14.35-58.84)	6
1 (A/G, *1/*1b)	59	56.73 (46.66-66.30)	46	46.00 (36.09-56.22)	25	50.00 (35.72-64.28)	21	43.75 (29.77-58.72)	12	66.67 (41.16-85.65)	6	33.33 (14.35-58.84)	11	64.71 (38.62-84.74)	11	61.11 (36.14-81.74)	11
2 (G/G, *1b/*1b)	9	8.65 (4.28-16.21)	17	17.00 (10.49-26.11)	4	8.00 (2.59-20.11)	10	20.83 (10.95-35.40)	2	11.11 (1.95-36.07)	4	22.23 (7.37-48.08)	2	11.76 (2.06-37.74)	1	5.56 (0.29-29.38)	1
A (*1)		62.98 (55.99-69.48)		60.00 (52.83-66.78)		67.00 (57.82-76.78)		57.29 (46.79-67.20)		55.56 (38.29-71.67)		61.11 (43.53-76.37)		55.88 (38.09-72.38)		63.89 (46.21-78.66)	
G (*1b)		37.02 (30.52-44.01)		40.00 (33.22-47.17)		33.00 (24.12-43.21)		42.71 (32.80-53.21)		44.44 (28.33-61.71)		38.89 (23.63-56.47)		44.12 (27.62-61.91)		36.11 (21.34-53.79)	

(continúa...)

Tabla 4.7. (Continúa)

Polimorfismos (genotipos/alelos)	CFC-ESP (n=207)				3-LOVs (n=100)				84-SIM (n=36)				91-PRA (n=36)			
	Hombres n	Frecuencias* (IC95%)	Mujeres n	Frecuencias* (IC95%)	Hombres n	Frecuencias* (IC95%)	Mujeres n	Frecuencias* (IC95%)	Hombres n	Frecuencias* (IC95%)	Mujeres n	Frecuencias* (IC95%)	Hombres n	Frecuencias* (IC95%)	Mujeres n	Frecuencias* (IC95%)
SNP13 (rs4149056)																
0 (T/T, *1/*1)	104	80.77 (71.62-87.59)	68	68.00 (57.82-76.78)	38	76.00 (61.51-86.48)	32	66.67 (51.49-79.19)	14	77.78 (51.92-92.63)	9	50.00 (26.77-73.23)	16	94.12 (69.24-99.69)	15	83.33 (57.73-95.59)
1 (T/C, *1/*5)	16	15.38 (9.31-24.08)	30	30.00 (21.45-40.11)	10	20.00 (10.50-34.14)	14	29.17 (17.40-44.26)	4	22.22 (7.37-48.08)	7	38.89 (18.26-63.86)	1	5.88 (0.31-30.76)	2	11.11 (1.95-36.07)
2 (C/C, *5/*5)	4	3.85 (1.24-10.13)	2	2.00 (0.35-7.74)	2	4.00 (0.70-14.86)	2	4.16 (0.73-15.43)	0	0.00 (0.00-0.00)	2	11.11 (1.95-36.07)	0	0.00 (0.00-0.00)	1	5.56 (0.29-29.38)
T (*1)		88.46 (83.13-92.32)		83.00 (76.91-87.79)		86.00 (77.29-91.86)		81.25 (71.72-88.22)		88.89 (73.00-96.38)		69.44 (51.73-83.08)		97.06 (82.95-99.85)		88.89 (73.00-96.38)
C (*5)		11.54 (7.68-16.87)		17.00 (12.21-23.09)		14.00 (8.14-22.71)		18.75 (11.78-28.28)		11.11 (3.62-27.00)		30.56 (16.92-48.27)		2.94 (0.15-17.05)		11.11 (3.62-27.00)
SNP14 (rs762551)																
0 (A/A, *1F/*1F)	105	43.81 (34.26-53.82)	42	42.00 (32.33-52.29)	19	38.00 (25.00-52.84)	17	35.42 (22.55-50.61)	5	27.78 (10.71-53.60)	8	44.44 (22.40-68.65)	9	50.00 (26.77-73.23)	8	44.44 (22.40-68.65)
1 (A/C, *1F/*1A)	47	44.76 (35.15-54.76)	45	45.00 (35.14-55.25)	26	52.00 (37.58-66.12)	26	54.17 (39.31-68.37)	10	55.55 (31.35-77.60)	9	50.00 (26.77-73.23)	7	38.89 (18.26-63.86)	9	50.00 (26.77-73.23)
2 (C/C, *1A/*1A)	12	11.43 (6.30-19.48)	13	13.00 (7.38-21.56)	5	10.00 (3.74-22.59)	5	10.41 (3.90-23.45)	3	16.67 (4.41-42.27)	1	5.56 (0.29-29.38)	2	11.11 (1.95-36.07)	1	5.56 (0.29-29.38)
A (*1F)		66.19 (59.31-72.47)		64.50 (57.40-71.04)		64.00 (55.77-74.99)		62.50 (51.99-72.00)		55.56 (38.29-71.67)		69.44 (51.73-83.08)		69.44 (51.73-83.08)		69.44 (51.73-83.08)
C (*1A)		33.81 (27.53-40.69)		35.50 (28.96-42.60)		36.00 (26.82-46.27)		37.50 (28.00-48.01)		44.44 (28.33-61.71)		30.56 (16.92-48.27)		30.56 (16.92-48.27)		30.56 (16.92-48.27)
SNP15 (rs2241409)																
0 (C/C)	104	67.31 (57.32-76.00)	73	72.28 (62.34-80.50)	32	65.31 (50.29-77.94)	33	67.35 (52.35-79.64)	11	61.11 (36.14-81.74)	15	83.33 (57.73-95.59)	14	77.78 (51.92-92.63)	12	66.67 (41.16-85.65)
1 (C/T)	31	29.81 (21.44-39.69)	24	23.76 (16.10-33.46)	16	32.65 (20.36-47.65)	13	26.53 (15.40-41.34)	7	38.89 (18.26-63.86)	3	16.67 (4.41-42.27)	2	11.11 (1.95-36.07)	5	27.77 (10.71-53.60)
2 (T/T)	3	2.88 (0.75-8.81)	4	3.96 (1.28-10.41)	1	2.04 (0.11-12.24)	3	6.12 (1.59-17.87)	0	0.00 (0.00-0.00)	0	0.00 (0.00-0.00)	2	11.11 (1.95-36.07)	1	5.56 (0.29-29.38)
C		82.21 (76.18-87.02)		84.16 (78.22-88.76)		81.63 (72.26-88.46)		80.61 (71.13-87.64)		80.56 (63.44-91.20)		91.67 (76.41-97.82)		83.33 (66.53-93.03)		80.56 (63.44-91.20)
T		17.79 (12.98-23.82)		15.84 (11.24-21.78)		18.37 (11.54-27.74)		19.39 (12.36-28.87)		19.44 (8.80-36.56)		8.33 (2.18-23.59)		16.67 (6.97-33.47)		19.44 (8.80-36.56)

* Todas las frecuencias alélicas y genotípicas están expresadas en %. Las frecuencias con diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres se representan en cursiva (ver Tabla 4.8).

Tabla 4.8. Valores *P* de la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas entre hombres y mujeres.

SNP	CFC-UAM (n=207)		3-LOVs (n=100)		84-SIM (n=36)		91-PRA (n=36)	
	(106 H y 101 M)		(51 H y 49 M)		(18 H y 18 M)		(18 H y 18 M)	
	Alelos ^a	Genotipos ^b	Alelos ^a	Genotipos ^b	Alelos ^a	Genotipos ^b	Alelos ^a	Genotipos ^b
SNP1	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP2	0.0284	0.0233	0.0107	0.0123	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP3	0.0092	0.0107	0.0004	0.0010	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP4	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP5	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP6	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP7	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP8	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP9	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	0.0196	0.0377
SNP10	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP11	0.0086	0.0081	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP12	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP13	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	0.0422	0.0500	>0.05	>0.05
SNP14	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SNP15	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

^a χ^2 ^b Test de tendencia de Armitage

En los voluntarios que participaron en el ensayo clínico de bioequivalencia con simvastatina (84-SIM) sólo se detectaron diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en uno de los 15 polimorfismos analizados. La frecuencia alélica de alelo mutado del SNP13 del gen *SLCO1B1* fue un 19% más baja en los hombres que en las mujeres del estudio 84-SIM.

Por último, en los voluntarios que participaron en el ensayo clínico de bioequivalencia con pravastatina (91-PRA), también, se detectaron diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas estadísticamente significativas entre hombres y mujeres sólo en uno de los 15 polimorfismos analizados. La frecuencia alélica de alelo mutado del SNP9 del gen *PON3* fue casi 25% más baja en los hombres que en las mujeres de este estudio.

4.3.- Análisis de las variables farmacocinéticas con modelos lineales mixtos de medidas repetidas (LMMR)

Las variables farmacocinéticas dosis dependientes, como C_{max} , AUC_t , Cl/F o MR , fueron ajustadas de tres formas diferentes: 1) por kilo de peso corporal ($_{p}$), por el peso corporal de una persona de 70 kg ($_{p70}$) o por mg de dosis de estatina administrada por kilo de peso corporal total ($_{dp}$).

Los modelos LMMR analizados fueron cuatro. Con el *modelo 1* se reprodujo el análisis de bioequivalencia, con el *modelo 2* se analizaron las diferencias entre hombres y mujeres, con el *modelo 3* se investigaron las diferencias existentes entre los individuos portadores de los tres genotipos de cada uno de los 15 polimorfismos analizados, y con el *modelo 4* se detectó la existencia de interacción entre el factor sexo y el polimorfismo.

4.3.1.- Modelo 1: Análisis de bioequivalencia

Con el *modelo 1* se analizó la existencia de diferencias entre las formulaciones (test y referencia), entre los periodos 1 y 2 o entre las secuencias 1 (RT) y 2 (TR) para pravastatina, simvastatina y lovastatina.

4.3.1.1.- Pravastatina

Las variables farmacocinéticas dependientes que se analizaron en 91-PRA fueron la C_{max} (ng/ml) y el AUC_t (ng·h/ml) sin ajustar y ajustadas de tres formas diferentes ($_{p}$, por kg de peso corporal; $_{p70}$, por el peso corporal de una persona de 70 kg ; o $_{dp}$, por mg de dosis recibida por kg de peso corporal), el aclaramiento aparente Cl/F (ml/min/kg) y la vida media de eliminación $t_{1/2}$ (h), en total 10, cuyos valores se resumen en la **Tabla A2.6** del **Anexo 2** (pág. A33). Al igual que con el análisis tradicional de bioequivalencia con el programa *WinNonlin 2.0 Pro*, no se detectó efecto formulación, periodo ni secuencia para ninguna de las variables farmacocinéticas analizadas. La única excepción fue la vida media de eliminación ($t_{1/2}$) para la cual se detectó un efecto periodo ($p=0.04$). La $t_{1/2}$ en el periodo 2 fue de media unos 24 minutos (17.47%) más larga que en el periodo 1.

4.3.1.2.- Simvastatina

En el caso del ensayo 84-SIM las variables fueron 18 al ser analizadas las variables farmacocinéticas de la lactona y el hidroxíácido (OHAc), aunque no la $t_{1/2}$ y sí el MR ("metabolic ratio" o cociente metabólico calculado mediante la fórmula $MR = AUC_t$

hidroxiácido/AUC_t lactona). Los valores de todas ellas se resumen en la **Tabla A2.7** del **Anexo 2** (pág. A33).

Se detectó un efecto formulación estadísticamente significativo para el AUC_t de la lactona de simvastatina ($p=0.001$), con sus tres formas de ajuste AUC_{t_p} ($p=0.001$), AUC_{t_p70} ($p=0.001$) y AUC_{t_dp} ($p=0.001$), siendo sus valores con la formulación test de media un 20% más altos que la de referencia. En cambio, el Cl/F de la lactona fue de media un 20% más alto con la formulación de referencia ($p=0.001$). Del mismo modo, el MR fue de media un 16% más alto con la formulación de referencia ($p=0.011$). Con el *modelo 1* se detectó, también, un efecto secuencia para el AUC_{t_dp} ($p=0.031$) y el Cl/F ($p=0.031$). El AUC_{t_dp} fue de media un 34% más alto con la secuencia 2 (TR) mientras que el Cl/F fue de media un 34% más alto con la secuencia 1 (RT). No se detectó efecto periodo para ninguna de las variables farmacocinéticas analizadas. Estos hallazgos reprodujeron los resultados obtenidos con el análisis de bioequivalencia estándar.

4.3.1.3.- Lovastatina

En el *modelo 1* de lovastatina (3-LOVs) se incluyó una variable independiente con efecto fijo (el efecto ensayo) más que en los dos anteriores pero el número de variables farmacocinéticas dependientes fue el mismo que en 84-SIM. Los valores de todas las variables farmacocinéticas analizadas se resumen en la **Tabla A2.8** del **Anexo 2** (pág. A34).

Se detectó un efecto ensayo para las variables C_{max_p} ($p=0.042$) y C_{max_p70} ($p=0.042$) de la lactona de lovastatina. En ambos casos sus valores en el ensayo 92-LOV fueron de media un 24% más altos que en el 73-LOV ($p=0.037$) y no estadísticamente diferentes de los del 78-LOV. En cuanto al efecto formulación, se detectó para la C_{max} ($p=4.80 \times 10^{-6}$) de la lactona y para sus tres formas de ajuste C_{max_p} ($p=4.80 \times 10^{-6}$), C_{max_p70} ($p=4.80 \times 10^{-6}$) y C_{max_dp} ($p=4.88 \times 10^{-6}$), siendo sus valores de media un 23% más altos con la formulación de referencia. Se detectó, también, un efecto formulación para todas las variables farmacocinéticas (C_{max} y AUC_t con sus sendos valores ajustados) del hidroxiácido de lovastatina a excepción del MR. Los valores de la C_{max} y del AUC_t fueron de media un 27% y un 8% más altos con la formulación de referencia, respectivamente. El efecto secuencia fue estadísticamente significativo para todas las variables farmacocinéticas de la lactona de lovastatina. Sus valores fueron de media un 22% más altos con la secuencia 2 (TR). En el caso del Cl/F esta diferencia media fue de un 30% a favor de la secuencia 1 (RT).

4.3.2.- Modelo 2: Análisis de las diferencias entre sexos

La pregunta a la que contestó el *modelo 2* es si existen diferencias entre hombres y mujeres en las variables farmacocinéticas analizadas para pravastatina, simvastatina y lovastatina una vez ajustadas por las demás variables independientes (formulación, periodo, secuencia, en el caso de 91-PRA y 84-SIM, y además ensayo, en el caso de 3-LOV) incluidas en el modelo.

4.3.2.1.- Pravastatina

En la **Figura 4.3** se representan los diagramas de caja en ambos sexos de las 10 variables farmacocinéticas de pravastatina (91-PRA) predichas (ajustadas por las covariables formulación, periodo y secuencia) por el *modelo 2*. En la **Tabla 4.9** se describe la magnitud de las diferencias entre hombres y mujeres para cada una de estas variables como la media de las diferencias expresada en tanto por cien tomando como referencia a los hombres.

Las mujeres presentaron una C_{\max} un 53% (IC95%: 5.07-102.94) más alta que los hombres ($p=3.20 \times 10^{-3}$). Al ajustarla por el peso corporal total (C_{\max_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (C_{\max_p70}) esta diferencia se incrementó hasta los 86% (IC95%: 31-144) ($p=7.46 \times 10^{-5}$). No obstante, al ajustarla por los *mg* de pravastatina administrados por *kg* de peso corporal total (C_{\max_dp}) la diferencia a favor de las mujeres se redujo hasta los 26% perdiendo su significación estadística ($p=0.115$).

En el caso del AUC_t se mantuvo la misma tendencia. Las mujeres presentaron un AUC_t 57% (IC95%: 8-109) más alto que el de los hombres ($p=2.20 \times 10^{-3}$). Esta diferencia se incrementó y alcanzó el 90% (IC95%: 35-150) ($p=4.42 \times 10^{-5}$) después de ajustarlo por el peso corporal total (AUC_{t_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (AUC_{t_p70}). Sin embargo, al ajustarla por los *mg* de pravastatina administrados por *kg* de peso corporal total (AUC_{t_dp}) la diferencia a favor de las mujeres se redujo hasta los 29% perdiendo su significación estadística ($p=0.088$).

El aclaramiento aparente de pravastatina, Cl/F (ml/min/kg), fue de media un 23% más alto en los hombres, pero al igual que el AUC_{t_dp} , no alcanzó la significación estadística ($p=0.088$).

No se detectaron diferencias entre hombres y mujeres en la vida media de eliminación ($t_{1/2}$) de pravastatina ($p=0.64$).

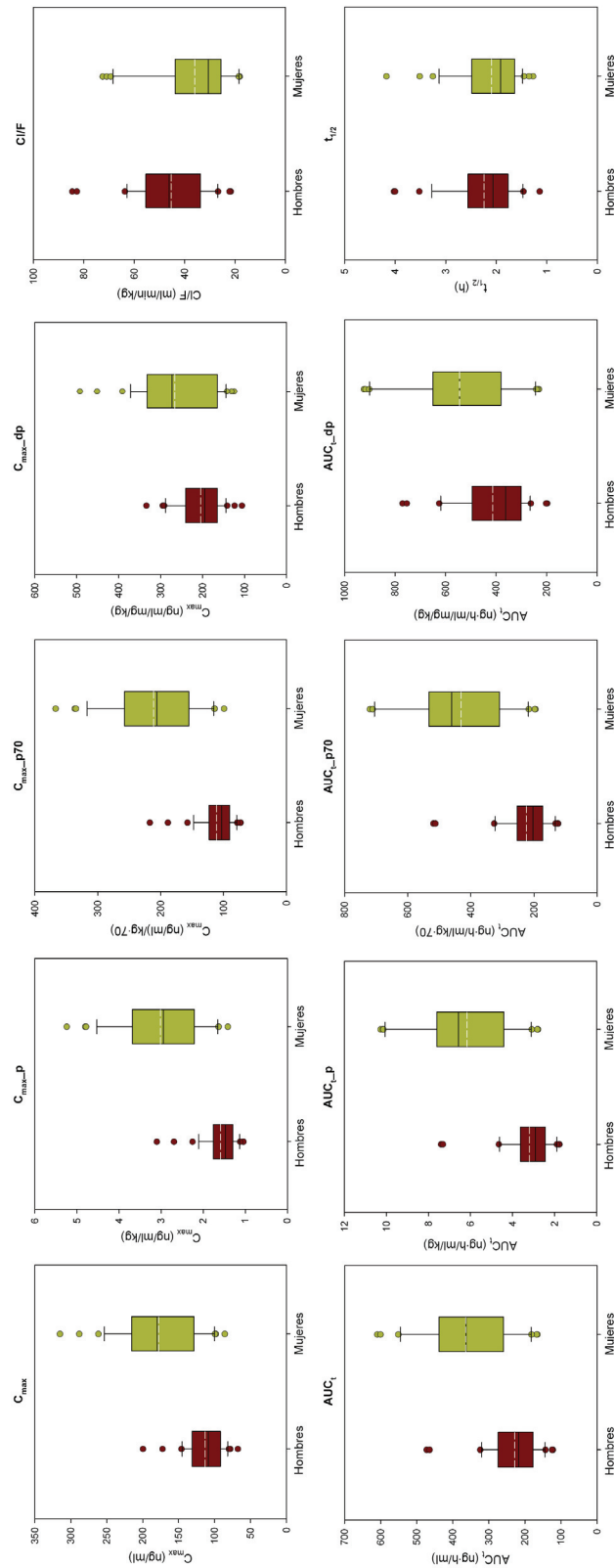


Figura 4.3. Diagramas de caja de las variables cinéticas de pravastatina (n=18) en hombres (n=18) y mujeres

(n=18) predichas por el modelo 2.

(_P, ajustado por kg de peso corporal; _{P70}, ajustado por el peso corporal en una persona de 70 kg; _{dp}, ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; para la magnitud de las diferencias y los valores *P* ver **Tabla 4.9**).

Tabla 4.9. Magnitud de las diferencias entre hombres y mujeres en las variables cinéticas de pravastatina (91-PRA) predichas por el modelo 2.

Variable PK	Hombres vs. Mujeres Diferencia media (%) (IC95%)	P (M2) ^a
C _{max}	-53.00 (-102.94 – -5.07)	0.0032
C _{max_p}	-85.69 (-144.07 – -30.74)	7.46E-05
C _{max_p70}	-85.69 (-144.00 – -30.72)	7.46E-05
C _{max_dp}	-26.01 (-73.29 – 20.23)	0.1150
AUC _t	-57.06 (-108.79 – -7.64)	0.0022
AUC _{t_p}	-90.58 (-150.18 – -34.61)	4.42E-05
AUC _{t_p70}	-90.58 (-150.10 – -34.60)	4.42E-05
AUC _{t_dp}	-29.33 (-78.69 – 18.68)	0.0880
Cl/F	22.68 (-14.44 – 60.77)	0.0880
t _{1/2}	6.62 (-34.38 – 47.82)	0.6430

^a Contraste basado en las comparaciones por parejas, linealmente independientes, entre las medias marginales estimadas por el modelo 2.

_p, ajustado por kg de peso corporal; _p70, ajustado por el peso corporal en una persona de 70 kg; _dp, ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal.

4.3.2.2.- Simvastatina

En las **Figuras 4.4 y 4.5** se representan los diagramas de caja en ambos sexos de las 18 variables farmacocinéticas de la lactona y del hidroxilácido de simvastatina (84-SIM), respectivamente, predichas (ajustadas por las covariables formulación, periodo y secuencia) por el *modelo 2*. En la **Tabla 4.10** se describe la magnitud de las diferencias entre hombres y mujeres para cada una de estas variables como la media de las diferencias expresada en tanto por cien tomando como referencia a los hombres.

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en las variables farmacocinéticas de la lactona de simvastatina (**Figura 4.4 y Tabla 4.10**). La única excepción fueron la C_{max} ajustada por el peso corporal total (C_{max_p}) y la ajustada por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (C_{max_p70}) siendo en ambos casos un 51% (IC95%: 8-114) más altas en las mujeres que en los hombres (p=0.014). No obstante, al ajustarla por los *mg* de simvastatina administrados por *kg* de peso corporal total (C_{max_dp}) la diferencia a favor de las mujeres se redujo hasta el 4% perdiendo su significación estadística (p=0.775).

En cambio se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en varias de las variables farmacocinéticas del hidroxilácido (OHA_c) de simvastatina (**Figura 4.5 y Tabla 4.10**).

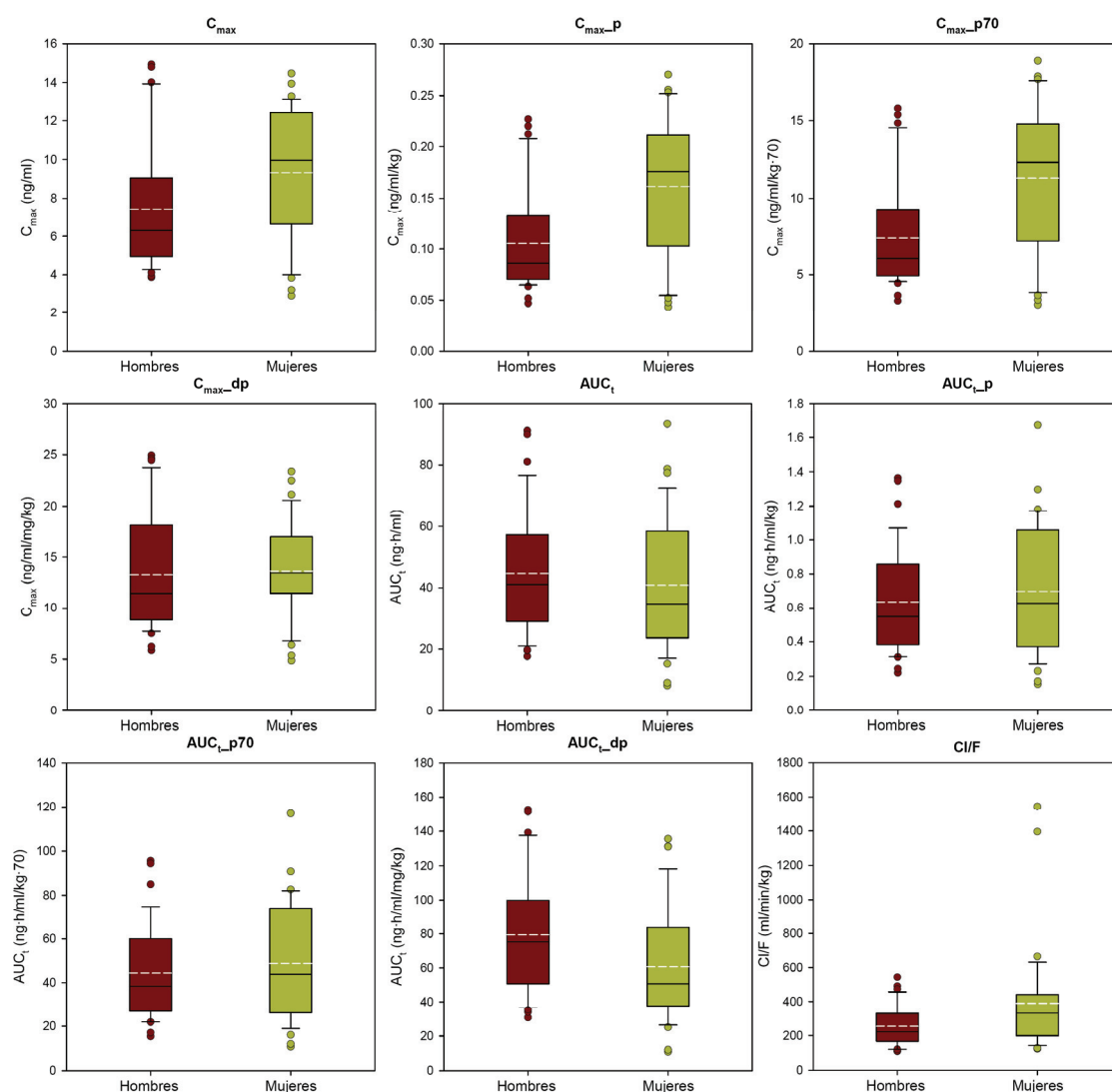


Figura 4.4. Diagramas de caja de las variables cinéticas de simvastatina (84-SIM) en hombres (n=18) y mujeres (n=18) predichas por el modelo 2.

($_{p}$, ajustado por kg de peso corporal; $_{p70}$, ajustado por el peso corporal en una persona de 70 kg; $_{dp}$, ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; para la magnitud de las diferencias y los valores P ver [Tabla 4.10](#)).

Las mujeres presentaron una C_{\max} del OHAc un 108% (IC95%: 13-216) más alta que los hombres ($p=2.50 \times 10^{-3}$). Al ajustarla por el peso corporal total (C_{\max_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (C_{\max_p70}) esta diferencia se incrementó hasta los 152% (IC95%: 44-275) ($p=2.37 \times 10^{-4}$). Al ajustarla por los *mg* de simvastatina administrados por *kg* de peso corporal total (C_{\max_dp}) la diferencia a favor de las mujeres se redujo hasta los 73% pero mantuvo su significación estadística ($p=0.024$).

En el caso del AUC_t del OHAc se mantuvo la misma tendencia. Las mujeres presentaron un AUC_t 76% (IC95%: 12-172) más alto que el de los hombres ($p=0.016$). Esta diferencia se incrementó y alcanzó el 111% (IC95%: 14-220) ($p=1.90 \times 10^{-3}$) después de ajustarlo por el peso corporal total (AUC_{t_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (AUC_{t_p70}). Sin embargo, al igual que con la lactona, al ajustarla por los *mg* de simvastatina administrados por *kg* de peso corporal total (AUC_{t_dp}) la diferencia a favor de las mujeres se redujo hasta el 47% perdiendo su significación estadística ($p=0.107$).

Tabla 4.10. Magnitud de las diferencias entre hombres y mujeres en las variables cinéticas de simvastatina (84-SIM) predichas por el modelo 2.		
Variable PK	Hombres vs. Mujeres Diferencia media (%) (IC95%)	P (M2) ^a
Lactona		
C_{\max}	-25.52 (-20.45 – 24.23)	0.1280
C_{\max_p}	-51.26 (-113.87 – -8.35)	0.0140
C_{\max_p70}	-51.26 (-113.87 – -8.35)	0.0140
C_{\max_dp}	-4.16 (-48.58 – 40.07)	0.7750
AUC_t	13.28 (-35.88 – 63.35)	0.4410
AUC_{t_p}	-4.84 (-62.23 – 52.19)	0.8070
AUC_{t_p70}	-4.84 (-62.23 – 52.19)	0.8070
AUC_{t_dp}	28.25 (-16.14 – 74.58)	0.0760
Cl/F	-39.37 (-103.94 – 22.50)	0.0760
Hidroxiácido		
C_{\max}	-108.83 (-216.37 – -12.81)	0.0025
C_{\max_p}	-151.64 (-274.77 – -44.36)	2.37E-04
C_{\max_p70}	-151.64 (-274.77 – -44.36)	2.37E-04
C_{\max_dp}	-73.40 (-170.79 – -15.69)	0.0238
AUC_t	-76.07 (-171.91 – -11.58)	0.0162
AUC_{t_p}	-111.41 (-220.14 – -14.51)	1.90E-03
AUC_{t_p70}	-111.41 (-220.14 – -14.51)	1.90E-03
AUC_{t_dp}	-46.65 (-134.29 – 35.62)	0.107
MR	-123.47 (-239.37 – -21.24)	0.0014

^a Contraste basado en las comparaciones por parejas, linealmente independientes, entre las medias marginales estimadas por el modelo 2.
 $_p$, ajustado por kg de peso corporal; $_p70$, ajustado por el peso corporal en una persona de 70 kg; $_dp$, ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal.

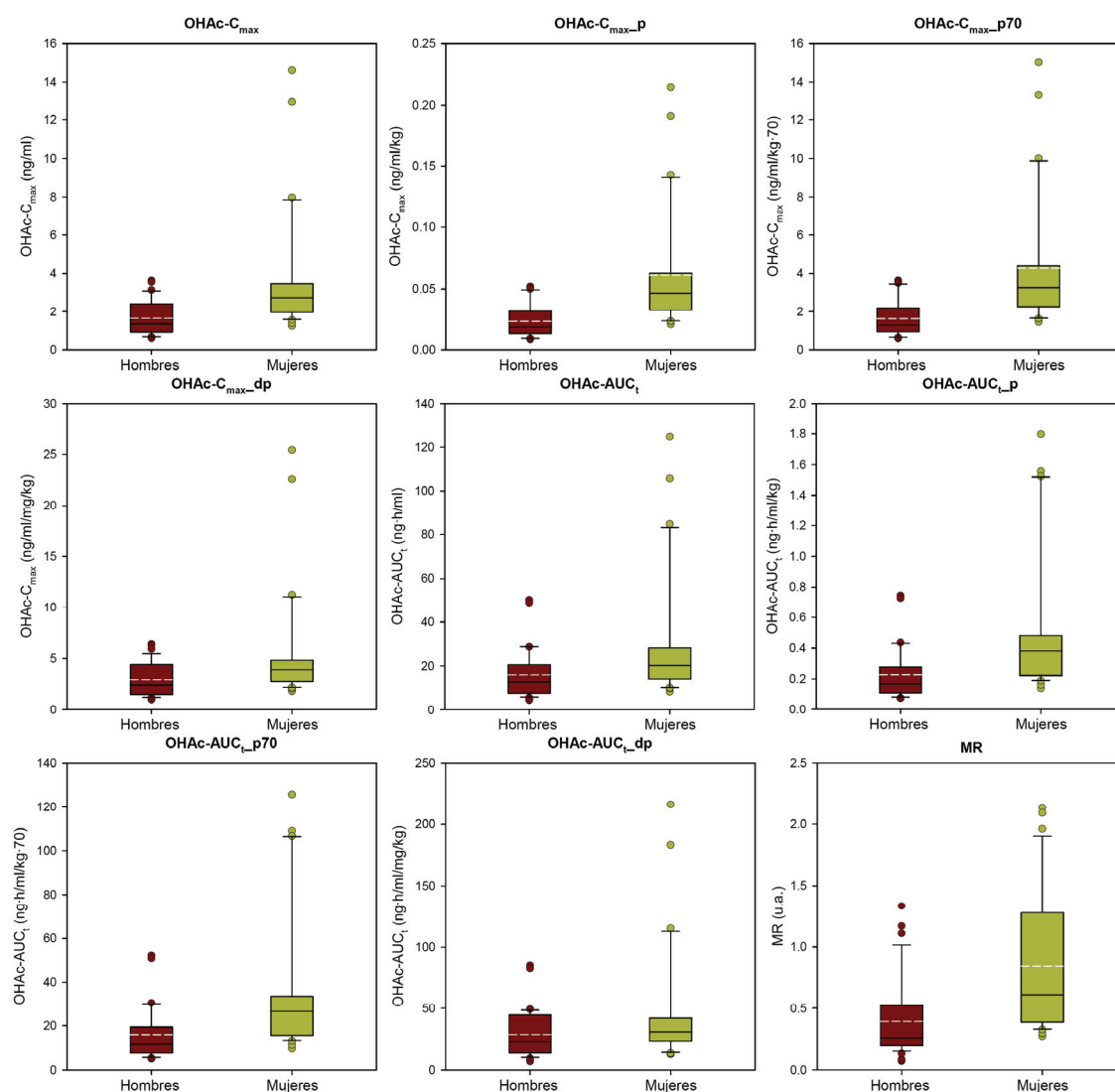


Figura 4.5. Diagramas de caja de las variables cinéticas del hidroxiácido (OHAc) de simvastatina (84-SIM) en hombres (n=18) y mujeres (n=18) predichas por el modelo 2.

(_p, ajustado por kg de peso corporal; _{p70}, ajustado por el peso corporal en una persona de 70 kg; _{dp}, ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; para la magnitud de las diferencias y los valores *P* ver **Tabla 4.10**).

No obstante, el MR ("metabolic ratio" o cociente metabólico calculado mediante la fórmula $MR = AUC_t \text{ hidroxilado} / AUC_t \text{ lactona}$) fue un 123% (IC95%: 36-134) más alto en la mujeres que en los hombres ($p=1.40 \times 10^{-3}$).

4.3.2.3.- Lovastatina

En las **Figuras 4.6 y 4.7** se representan los diagramas de caja en ambos sexos de las 18 variables farmacocinéticas de la lactona y del hidroxilado de lovastatina (3-LOVs), respectivamente, predichas (ajustadas por las covariables formulación, periodo, secuencia y ensayo) por el *modelo 2*. En la **Tabla 4.11** se describe la magnitud de las diferencias entre hombres y mujeres para cada una de estas variables como la media de las diferencias expresada en tanto por cien tomando como referencia a los hombres.

En este caso los hombres presentaron una C_{max} de la lactona de lovastatina un 17% (IC95%: 5.5-40) más alta que las mujeres ($p=0.03$). Al ajustarla por el peso corporal total (C_{max_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (C_{max_p70}) esta diferencia se invirtió a favor de las mujeres pero no alcanzó la significación estadística ($p=0.62$). En cambio, al ajustarla por los *mg* de lovastatina administrados por *kg* de peso corporal total (C_{max_dp}) se recuperó la diferencia a favor de los hombres ($p=2.60 \times 10^{-5}$) incrementándose hasta los 34% (IC95%: 12-57).

Algo parecido ocurrió con el AUC_t de la lactona. El AUC_t de los hombres fue un 9% más alto que el de las mujeres pero no alcanzó la significación estadística. Al ajustarlo por el peso corporal total (AUC_p) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (AUC_p70) esta diferencia se invirtió a favor de las mujeres (15%) pero tampoco alcanzó la significación estadística. En cambio, el AUC_t ajustado por los *mg* de lovastatina administrados por *kg* de peso corporal total (AUC_dp) fue un 27% (IC95%: 1.7-54) más alto en los hombres ($p=3.50 \times 10^{-3}$). Recíprocamente, el aclaramiento aparente, Cl/F (ml/min/kg), de la lactona de lovastatina fue un 38% (IC95%: 2.3-74) más alto en las mujeres ($p=3.50 \times 10^{-3}$).

Las mujeres presentaron una C_{max} del hidroxilado (OHAc) un 39% (IC95%: 5-84) más alta que los hombres ($p=0.014$). Al ajustarla por el peso corporal total (C_{max_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (C_{max_p70}) esta diferencia se incrementó hasta los 74% (IC95%: 23-128) ($p=9 \times 10^{-5}$).

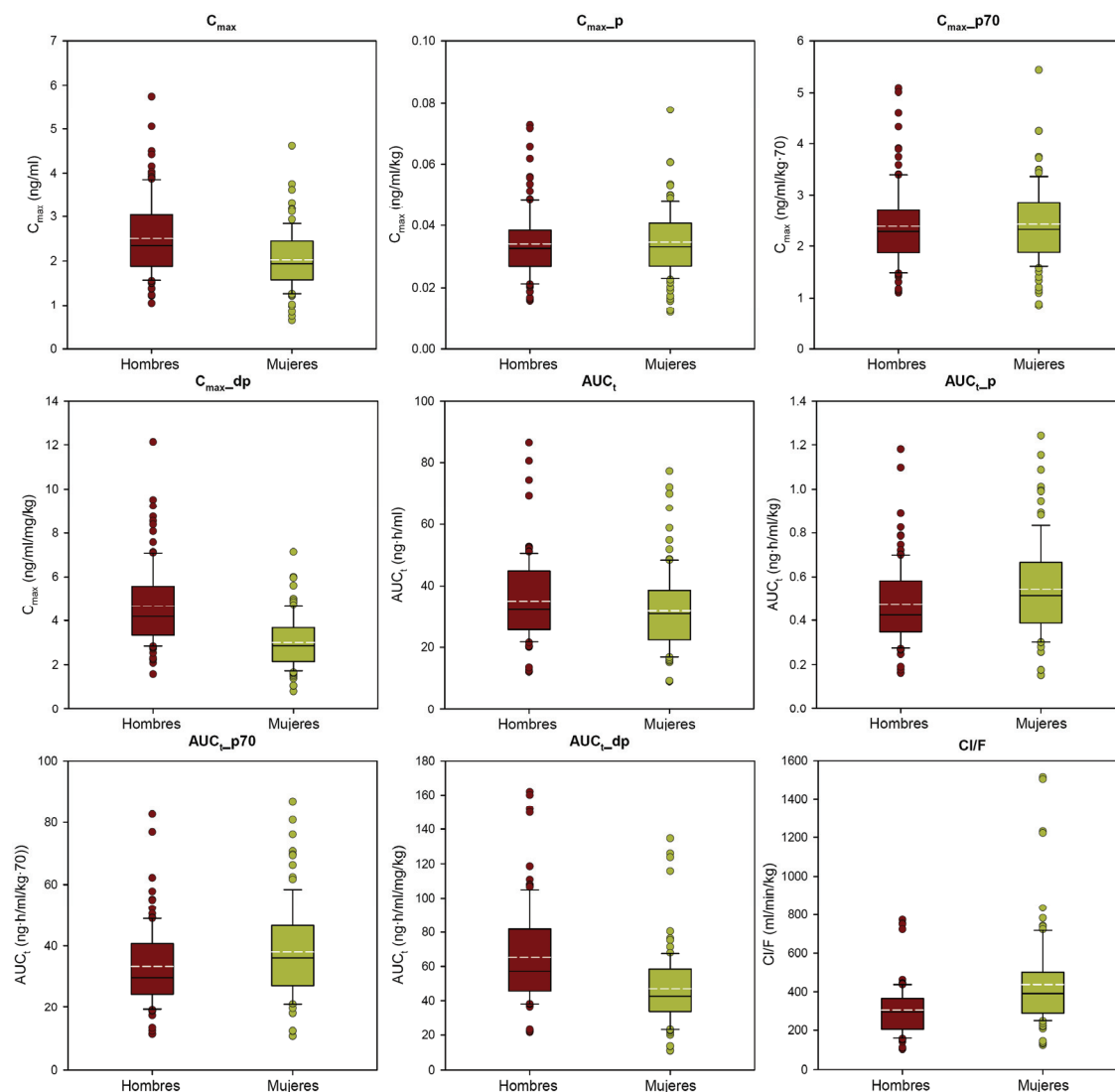


Figura 4.6. Diagramas de caja de las variables cinéticas de lovastatina (3-LOVs) en hombres (n=51) y mujeres (n=49) predichas por el modelo 2.

($_p$, ajustado por kg de peso corporal; $_p70$, ajustado por el peso corporal en una persona de 70 kg; $_dp$, ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; para la magnitud de las diferencias y los valores P ver [Tabla 4.11](#)).

La diferencia a favor de las mujeres en la C_{\max} del OHAc ajustada por los mg de lovastatina administrados por kg de peso corporal total (C_{\max_dp}) se redujo hasta los 11% y perdió su significación estadística ($p=0.43$).

El AUC_t del OHAc de las mujeres fue un 24% más alto que el de los hombres sin llegar a ser estadísticamente significativo ($p=0.13$). Esta diferencia se incrementó y alcanzó el 56% (IC95%: 3.2-111) ($p=3.60 \times 10^{-3}$) después de ajustarlo por el peso corporal total (AUC_{t_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (AUC_{t_p70}). Sin embargo, al igual que con la lactona, al ajustarlo por los mg de lovastatina administrados por kg de peso corporal total (AUC_{t_dp}) la diferencia se invirtió a favor de los hombres (un 1.45% más que en las mujeres) pero, en este caso, no alcanzó la significación estadística ($p=0.92$).

En cambio, el MR fue un 33% (IC95%: 9-76) más alto en la mujeres que en los hombres ($p=0.029$).

Tabla 4.11. Magnitud de las diferencias entre hombres y mujeres en las variables cinéticas de lovastatina (3-LOVs) predichas por el modelo 2.		
Variable PK	Hombres vs. Mujeres Diferencia media (%) (IC95%)	P (M2) ^a
Lactona		
C_{\max}	17.25 (5.50 – 39.55)	0.0311
C_{\max_p}	-4.27 (-28.63 – 19.96)	0.6219
C_{\max_p70}	-4.27 (-28.63 – 19.96)	0.6220
C_{\max_dp}	34.32 (12.48 – 56.70)	2.60E-05
AUC_t	8.58 (-18.45 – 35.70)	0.3740
AUC_{t_p}	-15.20 (-45.58 – 14.79)	0.1586
AUC_{t_p70}	-15.20 (-45.58 – 14.79)	0.1586
AUC_{t_dp}	27.45 (1.69 – 53.75)	0.0035
Cl/F	-37.84 (-74.35 – -2.32)	0.0035
Hidroxiácido		
C_{\max}	-38.88 (-83.88 – -4.62)	0.0139
C_{\max_p}	-74.06 (-128.11 – -22.91)	9.03E-05
C_{\max_p70}	-74.13 (-128.22 – -22.97)	8.95E-05
C_{\max_dp}	-10.86 (-50.13 – 27.88)	0.4333
AUC_t	-23.83 (-69.36 – 20.55)	0.1350
AUC_{t_p}	-55.65 (-110.76 – -3.21)	0.0036
AUC_{t_p70}	-55.65 (-110.76 – -3.21)	0.0036
AUC_{t_dp}	1.45 (-37.77 – 40.56)	0.9170
MR	-33.18 (-76.51 – -8.88)	0.0293

^a Contraste basado en las comparaciones por parejas, linealmente independientes, entre las medias marginales estimadas por el modelo 2.

$_p$, ajustado por kg de peso corporal; $_p70$, ajustado por el peso corporal en una persona de 70 kg; $_dp$, ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal.

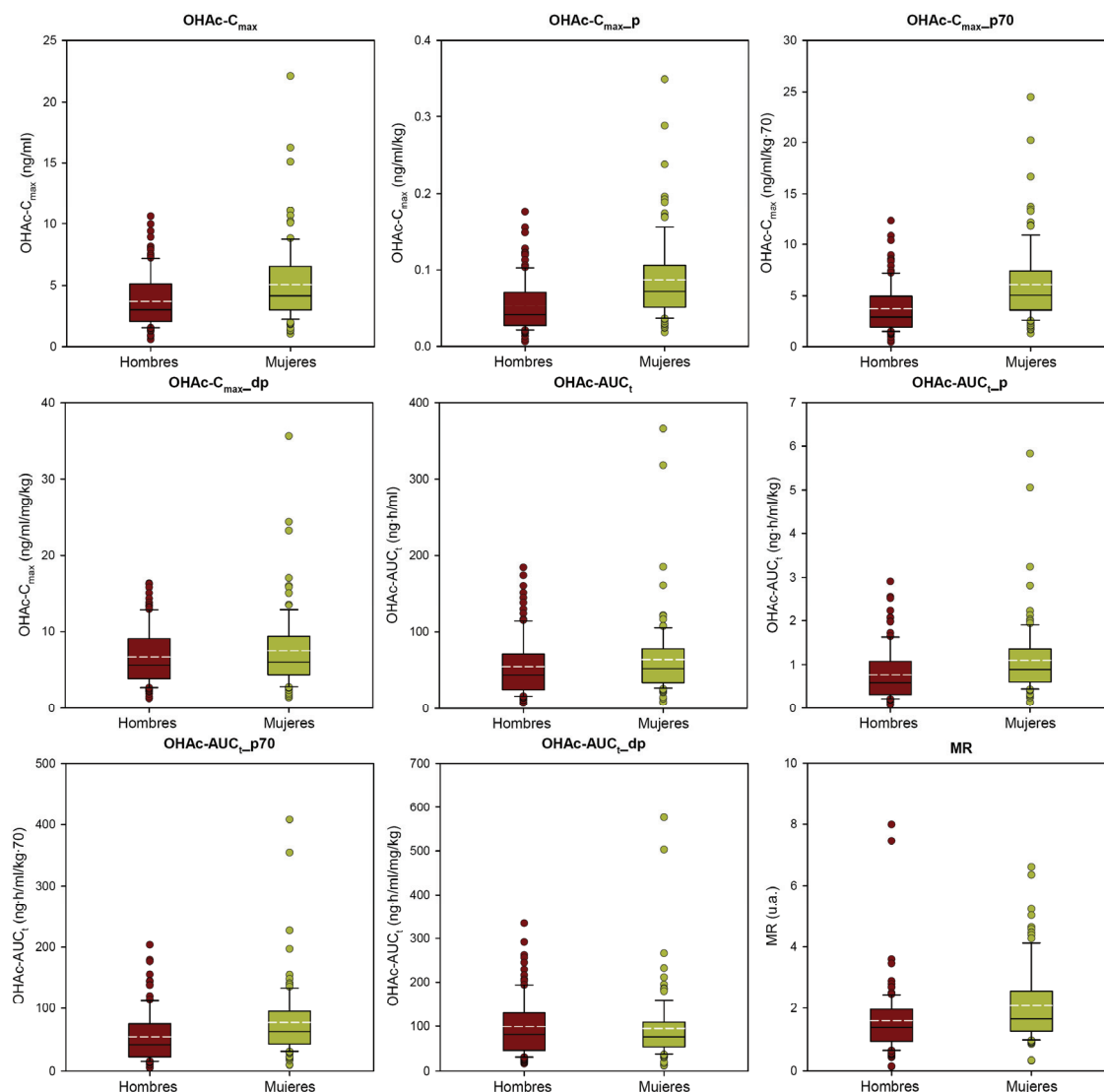


Figura 4.7. Diagramas de caja de las variables cinéticas del hidroxíácido (OHAc) de lovastatina (3-LOVs) en hombres ($n=51$) y mujeres ($n=49$) predichas por el modelo 2.

($_{p}$, ajustado por kg de peso corporal; $_{p70}$, ajustado por el peso corporal en una persona de 70 kg; $_{dp}$, ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; para la magnitud de las diferencias y los valores P ver [Tabla 4.11](#)).

4.3.3.- Modelo 3: Análisis de las diferencias entre los genotipos de los 15 SNPs

Con el *modelo 3* se investigó la existencia de diferencias entre los tres genotipos (homocigotos para el alelo silvestre, heterocigotos y homocigotos para el alelo mutado, "0", "1" y "2", respectivamente) de cada uno de los 15 SNPs en las variables farmacocinéticas analizadas para pravastatina, simvastatina y lovastatina una vez ajustadas por las demás variables independientes (formulación, periodo, secuencia, en el caso de 91-PRA y 84-SIM, y además ensayo, en el caso de 3-LOV) incluidas en el modelo.

4.3.3.1.- Pravastatina

Las variables farmacocinéticas analizadas con el *modelo 3* para pravastatina (91-PRA) fueron cuatro: la C_{max_dp} , el AUC_{t_dp} (ajustadas por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal), el aclaramiento aparente Cl/F por *kg* de peso corporal y la vida media de eliminación ($t_{1/2}$).

En la **Figura 4.8** se representan los diagramas de caja de los cuatro polimorfismos (SNP11, SNP12, SNP13 y SNP14) con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las cuatro variables farmacocinéticas de pravastatina predichas (ajustadas por las covariables formulación, periodo y secuencia) por el *modelo 3*. Los diagramas de caja de los restantes 11 polimorfismos se pueden encontrar en las **Figuras A2.1 – A2.4** del **Anexo 2** (pág. A35-A38). En la **Tabla 4.12** se describe la magnitud de las diferencias entre los genotipos de estos cuatro SNPs para cada una de las variables farmacocinéticas como la media de las diferencias expresada en tanto por cien tomando como referencia a los portadores homocigotos del alelo silvestre ("0") de cada polimorfismo. En los portadores heterocigotos u homocigotos del alelo mutado del SNP11 (rs5443 C>T) del gen *GNB3* y se observó una tendencia a presentar valores de C_{max_dp} de pravastatina más altos que los homocigotos para el alelo silvestre, aunque no alcanzó significación estadística. En el caso del AUC_{t_dp} esta tendencia sí alcanzó significación estadística ($P_{m3}=0.027$). No obstante, esta significación estadística desapareció después de realizar la pertinente corrección por comparaciones múltiples. La misma tendencia pero en este caso inversa se observó para el aclaramiento aparente (Cl/F), sin embargo, al igual que en el caso anterior, no resistió la corrección por comparaciones múltiples. No hubo diferencias entre los genotipos del SNP11 respecto a la vida media ($t_{1/2}$) de pravastatina.

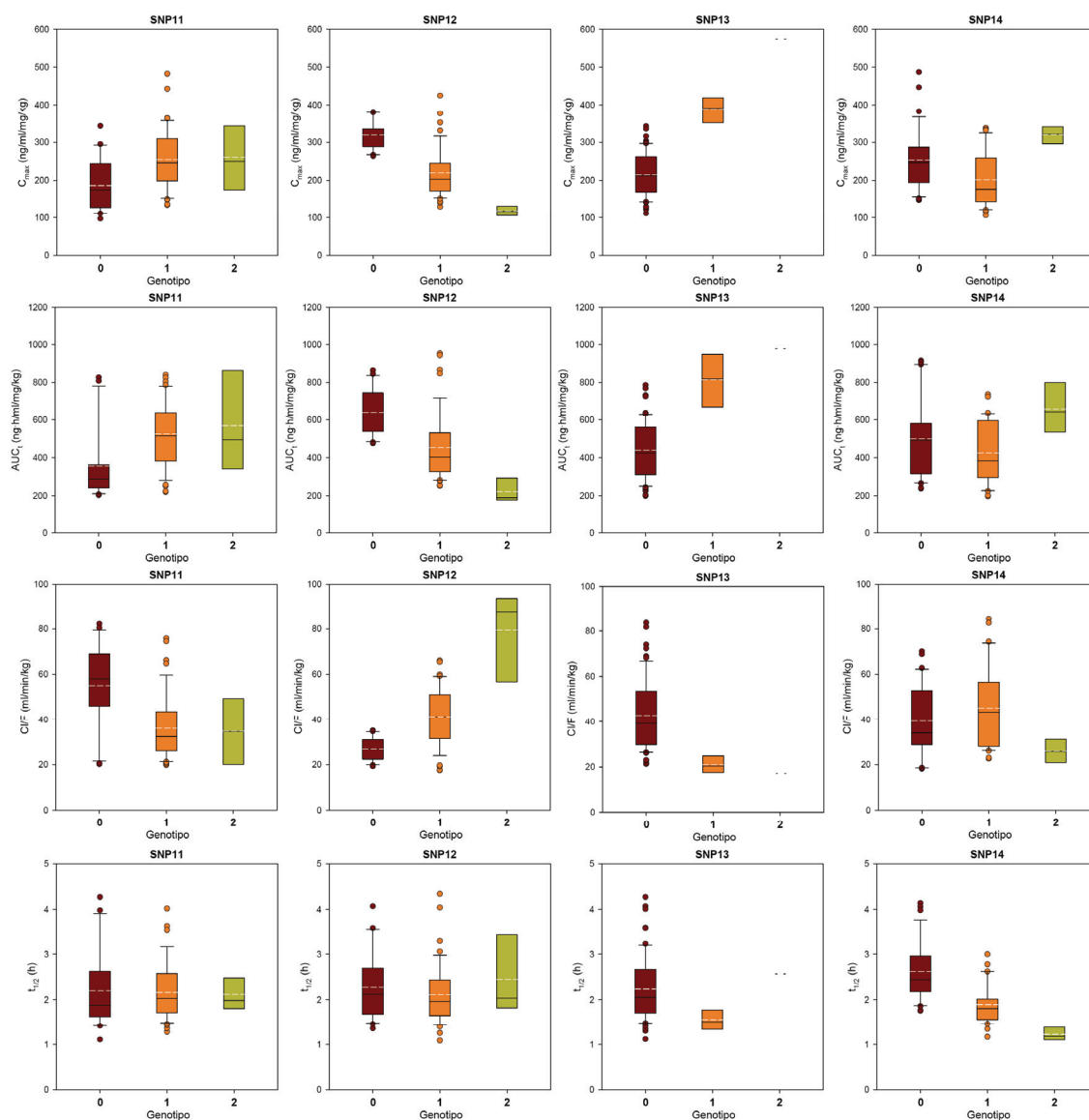


Figura 4.8. Diagramas de caja de los 4 SNPs con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las variables cinéticas de pravastatina (91-PRA) predichas por el modelo 3.

(SNP11: "0" n=10, "1" n=22, "2" n=4; SNP12: "0" n=10, "1" n=22, "2" n=3; SNP13: "0" n=31, "1" n=3, "2" n=1; SNP14: "0" n=17, "1" n=16, "2" n=3; dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; para la magnitud de las diferencias y los valores P ver [Tabla 4.12](#)).

Los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado del SNP12 (rs2306283 A>G o *1>*1b) del gen *SLCO1B1* presentaron unos valores de C_{max_dp} de pravastatina de media un 33% (IC95%: 2-69) y un 63% (IC95%: 23-102) más bajos que los homocigotos para el alelo silvestre, respectivamente. Esta tendencia se mantuvo estadísticamente significativa tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=9.10 \times 10^{-3}$).

Tabla 4.12. Magnitud de las diferencias entre los genotipos de los 4 SNPs con diferencias estadísticamente significativas en al menos una de las variables cinéticas de pravastatina (91-PRA) predichas por el modelo 3.

Variable PK/SNP	Genotipos comparados	Diferencia media (%) (IC95%)	P^a	$P(M3)^b$	P_c^c	$P_c(M3)^d$
C_{max} (ng/ml/mg/kg)						
SNP11	0 vs. 1	40.56 (-14.85 – 93.22)	0.0850	0.0920	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	55.39 (-33.20 – 169.40)	0.2132		>0.05	
SNP12	0 vs. 1	-33.62 (-68.74 – -2.20)	0.0097	6.04E-04	0.1455	0.0091
	0 vs. 2	-63.16 (-101.81 – -22.71)	5.64E-04		0.0085	
SNP13	0 vs. 1	107.91 (18.52 – 238.00)	0.0066	0.0015	0.0991	0.0229
	0 vs. 2	149.76 (3.33 – 442.96)	0.0409		0.6140	
SNP14	0 vs. 1	-21.20 (-59.30 – 16.23)	0.2237	0.0823	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	35.30 (-40.47 – 140.37)	0.5189		>0.05	
AUC_t (ng·h/ml/mg/kg)						
SNP11	0 vs. 1	53.86 (3.76 – 109.31)	0.0227	0.0267	0.3409	0.4006
	0 vs. 2	70.88 (-23.19 – 193.37)	0.1021		>0.05	
SNP12	0 vs. 1	-33.54 (-68.99 – -1.81)	0.0105	1.72E-04	0.1571	0.0026
	0 vs. 2	-68.20 (-105.38 – -30.12)	1.13E-04		0.0017	
SNP13	0 vs. 1	109.17 (13.06 – 253.15)	0.0116	0.0051	0.1745	0.0764
	0 vs. 2	120.56 (-17.98 – 412.19)	0.1204		>0.05	
SNP14	0 vs. 1	-13.76 (-55.69 – 27.67)	0.6866	0.1909	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	42.90 (-39.78 – 160.76)	0.4191		>0.05	
Cl/F (ml/min/kg)						
SNP11	0 vs. 1	-35.01 (-77.57 – -2.24)	0.0227	0.0267	0.3409	0.4006
	0 vs. 2	-41.49 (-94.40 – 16.19)	0.1021		>0.05	
SNP12	0 vs. 1	50.53 (2.93 – 96.39)	0.0105	1.72E-04	0.1571	0.0026
	0 vs. 2	214.56 (77.01 – 408.07)	1.13E-04		0.0017	
SNP13	0 vs. 1	-52.15 (-86.14 – -8.86)	0.0116	0.0051	0.1745	0.0764
	0 vs. 2	-54.66 (-95.54 – 15.84)	0.1204		>0.05	
SNP14	0 vs. 1	15.95 (-31.99 – 65.02)	0.6866	0.1909	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-30.02 (-83.00 – 37.73)	0.4191		>0.05	
$t_{1/2}$ (h)						
SNP11	0 vs. 1	1.21 (-50.58 – 48.25)	1.0000	0.9977	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	1.01 (-71.59 – 89.30)	1.0000		>0.05	
SNP12	0 vs. 1	-6.57 (-57.25 – 39.05)	1.0000	0.8195	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	9.53 (-71.23 – 116.38)	1.0000		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	-29.81 (-76.89 – 35.80)	0.4271	0.4143	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	22.63 (-68.47 – 221.05)	1.0000		>0.05	
SNP14	0 vs. 1	-27.39 (-61.36 – -5.81)	0.0465	0.0061	0.6968	0.0910
	0 vs. 2	-52.48 (-90.93 – -7.71)	0.0087		0.1300	

^a Contraste basado en las medias marginales estimadas por el modelo con corrección por comparaciones múltiples (Bonferroni) entre los genotipos tomando como referencia el genotipo 0.

^b Contraste basado en las comparaciones por parejas, linealmente independientes, entre las medias marginales estimadas por el modelo 3.

^c P corregido por las 15 comparaciones (Bonferroni) para cada uno de los SNPs.

^d $P(M3)$ corregido por las 15 comparaciones (Bonferroni) para cada uno de los SNPs.

Los valores del $AUC_{t_{dp}}$ de pravastatina en los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado fueron de media un 33% (IC95%: 2-69) y un 68% (IC95%: 30-105) más bajos que los homocigotos para el alelo silvestre del SNP12, respectivamente. Esta tendencia mantuvo su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=2.60 \times 10^{-3}$). Lo mismo ocurrió con el aclaramiento aparente (Cl/F) que igualmente mantuvo la significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=2.60 \times 10^{-3}$) pero en este caso los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado del SNP12 presentaron un Cl/F medio un 51% (IC95%: 3-96) y un 215% (IC95%: 77-408) más alto que los homocigotos para el alelo silvestre, respectivamente. No hubo diferencias entre los genotipos del SNP12 respecto a la vida media ($t_{1/2}$) de pravastatina.

A diferencia del SNP12, los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado del SNP13 (rs4149056 T>C o *1>*5), también, del gen *SLCO1B1*, presentaron unos valores medios de C_{max_dp} de pravastatina un 108% (IC95%: 19-238) y un 150% (IC95%: 3-443) más altos que los homocigotos para el alelo silvestre, respectivamente. Esta tendencia mantuvo su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=0.023$). Los valores del $AUC_{t_{dp}}$ de pravastatina en los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado fueron de media un 109% (IC95%: 13-253) y un 121% (IC95%: -18-412) más altos que los homocigotos para el alelo silvestre del SNP13, respectivamente. Esta tendencia, sin embargo, no mantuvo por poco su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=0.076$). Lo mismo ocurrió con el aclaramiento aparente (Cl/F) que igualmente perdió por poco la significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=0.076$) pero en este caso los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado del SNP13 presentaron un Cl/F medio un 52% (IC95%: 9-86) y un 55% (IC95%: -16 - 95) más bajo que los homocigotos para el alelo silvestre, respectivamente. Tampoco hubo diferencias entre los genotipos del SNP13 respecto a la vida media ($t_{1/2}$) de pravastatina.

En los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo C (*1A) del SNP14 (rs762551 C>A o *1A>*1F) del gen *CYP1A2* se observó una tendencia a presentar valores de $t_{1/2}$ de pravastatina un 27% (IC95%: 6-61) y un 52% (IC95%: 8-91) más bajos que los homocigotos para el alelo A (*1F), aunque no mantuvo la significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples

($P_{c(m3)}=0.091$). No hubo diferencias entre los genotipos del SNP14 respecto al resto de variables farmacocinéticas de pravastatina analizadas.

4.3.3.2.- Simvastatina

Las variables farmacocinéticas analizadas con el *modelo 3* para simvastatina (84-SIM) fueron seis: la C_{max_dp} , el AUC_{t_dp} (ajustadas por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal) y el aclaramiento aparente Cl/F por *kg* de peso corporal de la lactona, y la C_{max_dp} , el AUC_{t_dp} y el MR ("*metabolic ratio*" o cociente metabólico calculado mediante la fórmula $MR = AUC_t \text{ hidroxilado}/AUC_t \text{ lactona}$) del hidroxilado.

En las **Figuras 4.9** y **4.10** se representan los diagramas de caja de los tres polimorfismos (SNP3, SNP11 y SNP13) con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las cuatro variables farmacocinéticas de la lactona y/o del hidroxilado de simvastatina, respectivamente, predichas (ajustadas por las covariables formulación, periodo y secuencia) por el *modelo 3*. Los diagramas de caja de los restantes 12 polimorfismos se pueden encontrar en las **Figuras A2.5 – A2.10** del **Anexo 2** (pág. A39-A44). En la **Tabla 4.13** se describe la magnitud de las diferencias entre los genotipos de estos tres SNPs para cada una de las variables farmacocinéticas como la media de las diferencias expresada en tanto por cien tomando como referencia a los portadores homocigotos del alelo silvestre ("0") de cada polimorfismo.

Los portadores homocigotos del alelo mutado del SNP3 (rs2502815 C>T) del gen *NR1I2* presentaron unos valores de C_{max_dp} y de AUC_{t_dp} del hidroxilado de simvastatina un 184%% (IC95%: 13-578) y un 174% (IC95%: 12-526) más altos que los homocigotos para el alelo silvestre, respectivamente. Sin embargo, estas diferencias perdieron su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples. No se detectaron diferencias entre los genotipos del SNP3 respecto al resto de variables farmacocinéticas analizadas tanto de la lactona como del hidroxilado de simvastatina.

Los valores de C_{max_dp} de la lactona de simvastatina en los portadores homocigotos del alelo mutado del SNP11 (rs5443 C>T) del gen *GNB3* fueron de media un 51% (IC95%: 6-95) más bajos que los homocigotos para el alelo silvestre. Sin embargo, estas diferencias no mantuvieron su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples.

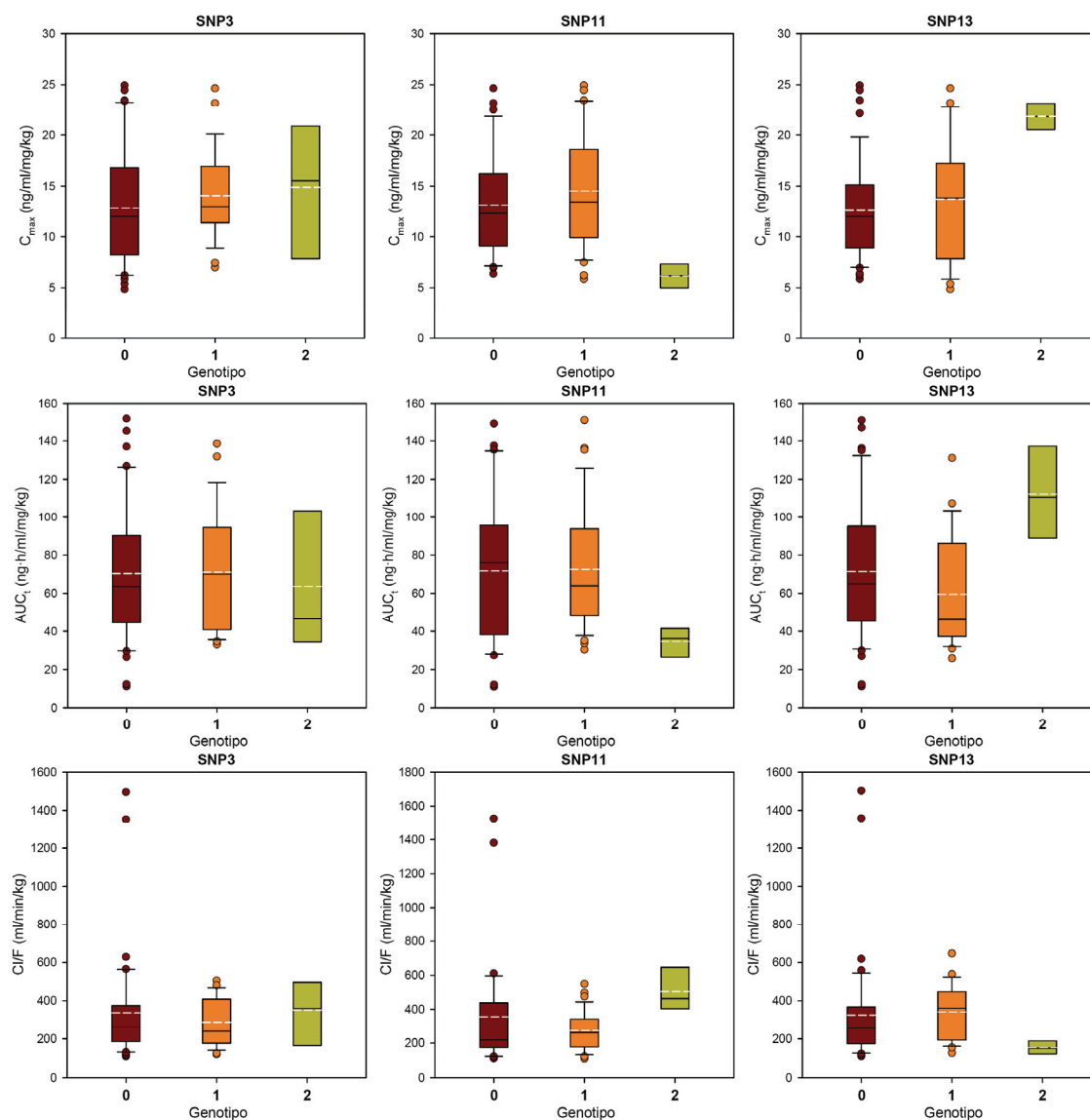


Figura 4.9. Diagramas de caja de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las variables cinéticas de simvastatina (84-SIM) predichas por el modelo 3.

(SNP3: "0" n=20, "1" n=13, "2" n=3; SNP11: "0" n=16, "1" n=18, "2" n=2; SNP13: "0" n=23, "1" n=11, "2" n=2; dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; para la magnitud de las diferencias y los valores P ver [Tabla 4.13](#)).

Tabla 4.13. Magnitud de las diferencias entre los genotipos de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas en al menos una de las variables cinéticas de simvastatina (84-SIM) predichas por el modelo 3.

Variable PK/SNP	Genotipos comparados	Diferencia media (%) (IC95%)	P ^a	P (M3) ^b	P _c ^c	P _c (M3) ^d
Lactona						
C_{max} (ng/ml/mg/kg)						
SNP3	0 vs. 1	16.62 (-31.98 – 68.28)	0.6310	0.5630	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	16.39 (-52.56 – 111.37)	1.0000		>0.05	
SNP11	0 vs. 1	10.38 (-32.94 – 53.68)	0.9300	0.0304	>0.05	0.4562
	0 vs. 2	-50.55 (-95.14 – -5.54)	0.0415		0.6232	
SNP13	0 vs. 1	7.84 (-38.24 – 58.16)	1.0000	0.1590	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	81.80 (-21.71 – 251.03)	0.1190		>0.05	
AUC_t (ng·h/ml/mg/kg)						
SNP3	0 vs. 1	7.34 (-52.32 – 71.55)	1.0000	0.7870	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-16.63 (-87.60 – 87.32)	1.0000		>0.05	
SNP11	0 vs. 1	16.49 (-43.50 – 76.76)	0.8620	0.2300	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-42.21 (-106.67 – 52.88)	0.3920		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	-4.20 (-60.85 – 59.19)	1.0000	0.6060	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	51.30 (-62.59 – 274.05)	0.6830		>0.05	
Cl/F (ml/min/kg)						
SNP3	0 vs. 1	-6.84 (-62.57 – 51.92)	1.0000	0.7870	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	19.95 (-69.04 – 159.41)	1.0000		>0.05	
SNP11	0 vs. 1	-14.16 (-66.97 – 36.74)	0.8620	0.2300	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	73.04 (-54.73 – 308.60)	0.3920		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	4.39 (-54.87 – 71.53)	1.0000	0.6060	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-33.91 (-99.17 – 75.56)	0.6830		>0.05	
Hidroxiácido						
C_{max} (ng/ml/mg/kg)						
SNP3	0 vs. 1	54.64 (-34.26 – 157.88)	0.1780	0.0361	>0.05	0.5422
	0 vs. 2	184.41 (13.50 – 576.80)	0.0435		0.6528	
SNP11	0 vs. 1	-4.30 (-81.17 – 70.25)	1.0000	0.7660	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	44.85 (-98.98 – 364.57)	1.0000		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	135.23 (54.45 – 232.12)	4.95E-05	4.47E-08	7.42E-04	6.70E-07
	0 vs. 2	809.88 (340.78 – 1708.43)	6.25E-07		9.38E-06	
AUC_t (ng·h/ml/mg/kg)						
SNP3	0 vs. 1	44.13 (-37.58 – 137.35)	0.2650	0.0423	>0.05	0.6346
	0 vs. 2	173.56 (11.59 – 527.55)	0.0411		0.6166	
SNP11	0 vs. 1	-4.06 (-78.83 – 68.59)	1.0000	0.9030	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	22.36 (-103.34 – 282.73)	1.0000		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	119.59 (38.20 – 217.56)	3.01E-04	7.09E-07	4.52E-03	1.06E-05
	0 vs. 2	653.95 (245.85 – 1459.03)	7.23E-06		1.09E-04	
MR						
SNP3	0 vs. 1	35.04 (-54.39 – 137.92)	0.5590	0.0940	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	180.62 (-28.39 – 623.33)	0.0755		>0.05	
SNP11	0 vs. 1	-19.70 (-94.33 – 50.24)	0.8500	0.2370	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	114.11 (-80.21 – 596.07)	0.4100		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	123.29 (22.10 – 251.31)	2.89E-03	4.65E-05	4.34E-02	6.98E-04
	0 vs. 2	594.36 (152.99 – 1628.25)	3.40E-04		5.11E-03	

^a Contraste basado en las medias marginales estimadas por el modelo con corrección por comparaciones múltiples (Bonferroni) entre los genotipos tomando como referencia el genotipo 0.

^b Contraste basado en las comparaciones por parejas, linealmente independientes, entre las medias marginales estimadas por el modelo 3.

^c P corregido por las 15 comparaciones (Bonferroni) para cada uno de los SNPs.

^d P (M3) corregido por las 15 comparaciones (Bonferroni) para cada uno de los SNPs.

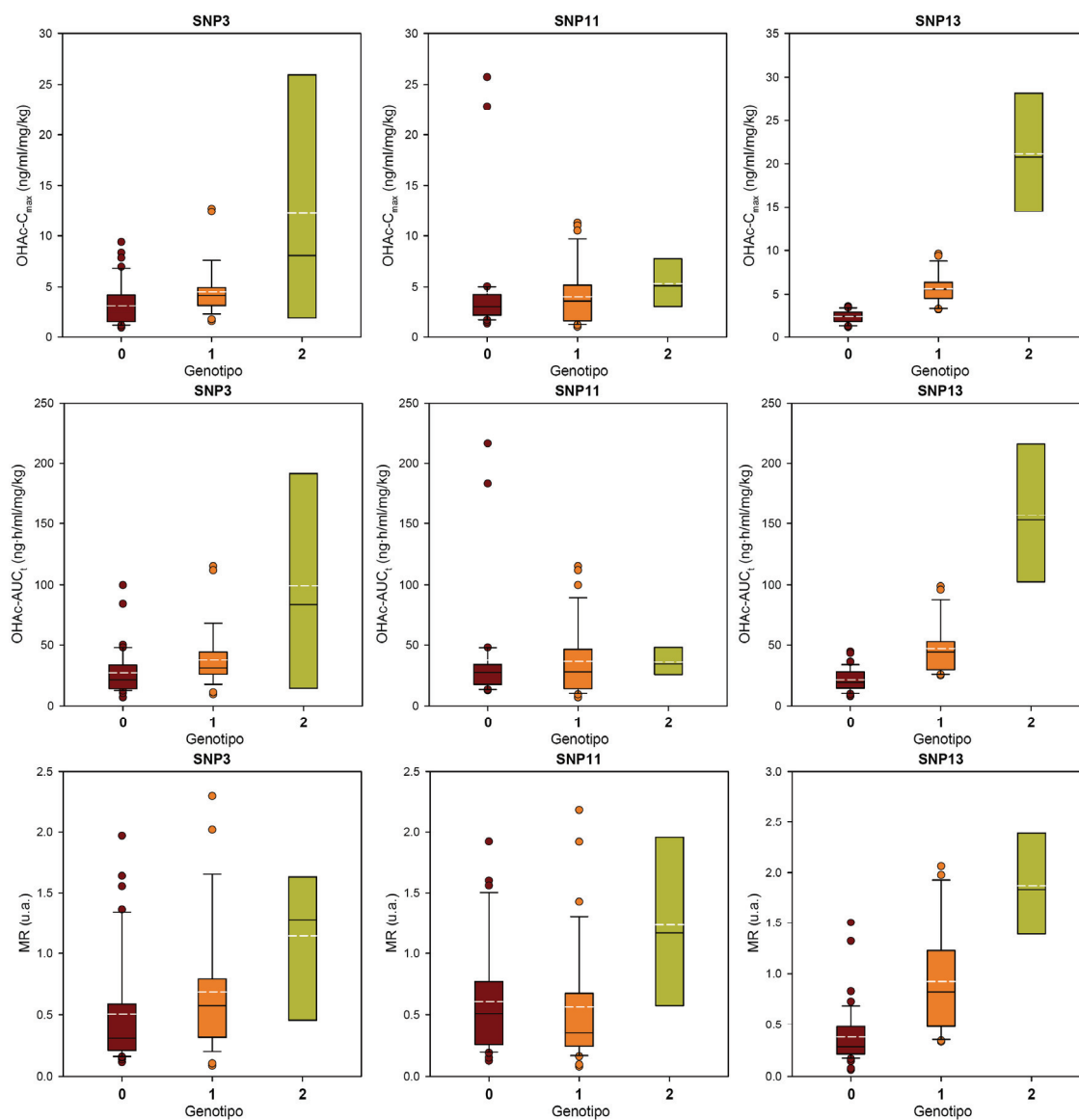


Figura 4.10. Diagramas de caja de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las variables cinéticas del hidroxiácido (OHAc) de simvastatina (84-SIM) predichas por el modelo 3.

(SNP3: "0" n=20, "1" n=13, "2" n=3; SNP11: "0" n=16, "1" n=18, "2" n=2; SNP13: "0" n=23, "1" n=11, "2" n=2; dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; para la magnitud de las diferencias y los valores P ver **Tabla 4.13**).

No se detectaron diferencias entre los genotipos del SNP11 respecto al resto de variables farmacocinéticas analizadas tanto de la lactona como del hidroxíácido de simvastatina.

Por último, no se detectaron diferencias entre los genotipos del SNP13 (rs4149056 T>C o *1>*5), del gen *SLCO1B1*, respecto al resto de variables farmacocinéticas analizadas de la lactona de simvastatina. Sin embargo, los valores de la C_{\max_dp} del hidroxíácido de simvastatina en los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado fueron de media un 135% (IC95%: 54-232) y un 810% (IC95%: 341-1708) más altos que los homocigotos para el alelo silvestre del SNP13, respectivamente. Esta tendencia mantuvo su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=6.70 \times 10^{-7}$). Del mismo modo los valores del AUC_{t_dp} del hidroxíácido de simvastatina fueron en los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado de media un 120% (IC95%: 38-218) y un 654% (IC95%: 246-1459) más altos que los homocigotos para el alelo silvestre del SNP13, respectivamente. Esta tendencia, también, mantuvo su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=1.06 \times 10^{-5}$). Lo mismo ocurrió con los valores del MR que igualmente fueron en los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado de media un 123% (IC95%: 22-251) y un 594% (IC95%: 153-1628) más altos que los homocigotos para el alelo silvestre del SNP13, respectivamente, manteniendo su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=6.98 \times 10^{-4}$).

4.3.3.3.- Lovastatina

Las variables farmacocinéticas analizadas con el *modelo 3* para lovastatina (3-LOVs), al igual que para 84-SIM, fueron seis: la C_{\max_dp} , el AUC_{t_dp} (ajustadas por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal) y el aclaramiento aparente Cl/F por *kg* de peso corporal de la lactona, y la C_{\max_dp} , el AUC_{t_dp} y el MR ("*metabolic ratio*" o cociente metabólico calculado mediante la fórmula $MR = AUC_t \text{ hidroxíácido} / AUC_t \text{ lactona}$) del hidroxíácido.

En las **Figuras 4.11** y **4.12** se representan los diagramas de caja de los tres polimorfismos (SNP11, SNP13 y SNP14) con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las cuatro variables farmacocinéticas de la lactona y/o del hidroxíácido de lovastatina, respectivamente, predichas (ajustadas por las covariables formulación, periodo y secuencia) por el *modelo 3*. Los diagramas de caja de los restantes 12 polimorfismos se pueden

encontrar en las **Figuras A2.11 – A2.16** del **Anexo 2** (pág. A45-A50). En la **Tabla 4.14** se describe la magnitud de las diferencias entre los genotipos de estos tres SNPs para cada una de las variables farmacocinéticas como la media de las diferencias expresada en tanto por cien tomando como referencia a los portadores homocigotos del alelo silvestre ("0") de cada polimorfismo.

Los portadores homocigotos del alelo mutado del SNP11 (rs5443 C>T) del gen *GNB3* presentaron unos valores medios de ATC_{t_dp} de la lactona de lovastatina un 35% (IC95%: 3-70) más bajos que los homocigotos para el alelo silvestre. Sin embargo, estas diferencias perdieron su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples. En cuanto al aclaramiento aparente de la lactona de lovastatina los portadores homocigotos del alelo mutado del SNP11 presentaron unos valores medios un 55% (IC95%: 4-127) más altos que los homocigotos para el alelo silvestre, pero tampoco mantuvieron su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples. No se detectaron diferencias entre los genotipos del SNP11 respecto al resto de variables farmacocinéticas analizadas tanto de la lactona como del hidroxilácido de lovastatina.

Los valores de C_{max_dp} de la lactona de lovastatina en los portadores homocigotos del alelo C (*1A) del SNP14 (rs762551 C>A o *1A>*1F) del gen *CYP1A2* fueron de media un 40% (IC95%: 3-75) más bajos que los homocigotos para el alelo A (*1F). Sin embargo, estas diferencias, tampoco mantuvieron su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples. No se detectaron diferencias entre los genotipos del SNP14 respecto al resto de variables farmacocinéticas analizadas tanto de la lactona como del hidroxilácido de lovastatina.

Por último, no se detectaron diferencias entre los genotipos del SNP13 (rs4149056 T>C o *1>*5), del gen *SLCO1B1*, respecto al resto de variables farmacocinéticas analizadas de la lactona de lovastatina. Sin embargo, los valores de la C_{max_dp} del hidroxilácido de lovastatina en los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado fueron de media un 80% (IC95%: 30-139) y un 256% (IC95%: 91-531) más altos que los homocigotos para el alelo silvestre del SNP13, respectivamente. Esta tendencia mantuvo su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=5.61 \times 10^{-6}$).

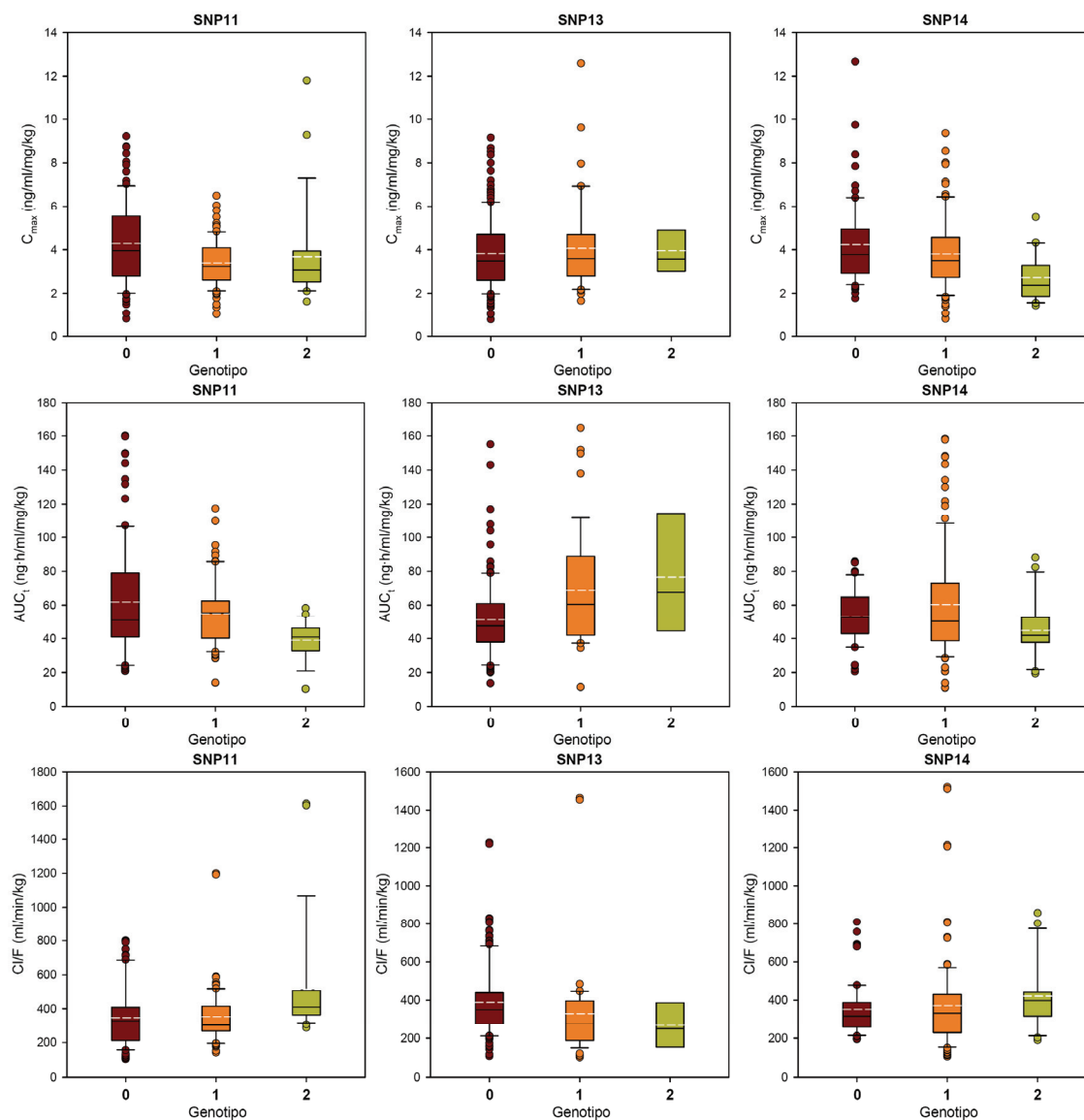


Figura 4.11. Diagramas de caja de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las variables cinéticas de lovastatina (3-LOVs) predichas por el modelo 3.

(*SNP11*: "0" $n=48$, "1" $n=40$, "2" $n=12$; *SNP13*: "0" $n=70$, "1" $n=24$, "2" $n=4$; *SNP14*: "0" $n=36$, "1" $n=52$, "2" $n=10$; dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; para la magnitud de las diferencias y los valores P ver **Tabla 4.14**).

Tabla 4.14. Magnitud de las diferencias entre los genotipos de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas en al menos una de las variables cinéticas de lovastatina (3-LOVs) predichas por el modelo 3.

Variable PK/SNP	Genotipos comparados	Diferencia media (%) (IC95%)	P^a	$P(M3)^b$	Pc^c	$Pc(M3)^d$
Lactona						
C_{max} (ng/ml/mg/kg)						
SNP11	0 vs. 1	-15.37 (-44.24 – 13.51)	0.2800	0.2530	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-18.05 (-55.31 – 24.28)	0.4800		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	4.98 (-28.68 – 41.96)	1.0000	0.9230	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	4.11 (-51.52 – 87.15)	1.0000		>0.05	
SNP14	0 vs. 1	-19.33 (-48.22 – 8.26)	0.1110	0.0135	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-40.41 (-75.03 – -2.59)	0.0109		>0.05	
AUC_t (ng·h/ml/mg/kg)						
SNP11	0 vs. 1	-5.63 (-37.68 – 26.72)	1.0000	0.0516	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-35.40 (-69.97 – -3.10)	0.0317		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	28.86 (-11.41 – 74.07)	0.1180	0.0990	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	43.79 (-31.14 – 161.58)	0.4120		>0.05	
SNP14	0 vs. 1	-2.83 (-37.49 – 30.60)	1.0000	0.3980	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-23.73 (-67.16 – 25.79)	0.3700		>0.05	
Cl/F (ml/min/kg)						
SNP11	0 vs. 1	5.96 (-27.92 – 40.49)	1.0000	0.0516	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	54.81 (4.11 – 126.67)	0.0317		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	-22.40 (-52.26 – 0.74)	0.1176	0.0990	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-30.45 (-73.97 – 32.90)	0.4120		>0.05	
SNP14	0 vs. 1	2.92 (-32.56 – 37.31)	1.0000	0.3980	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	31.11 (-28.66 – 103.88)	0.3700		>0.05	
Hidroxiácido						
C_{max} (ng/ml/mg/kg)						
SNP11	0 vs. 1	-6.75 (-45.04 – 31.92)	1.0000	0.5020	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	20.29 (-38.43 – 92.74)	0.7780		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	80.51 (29.55 – 139.15)	5.00E-05	3.74E-07	7.51E-04	5.61E-06
	0 vs. 2	256.40 (91.01 – 531.49)	5.01E-05		7.51E-04	
SNP14	0 vs. 1	-19.12 (-56.64 – 16.26)	0.2800	0.3350	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-12.14 (-65.88 – 51.72)	1.0000		>0.05	
AUC_t (ng·h/ml/mg/kg)						
SNP11	0 vs. 1	-7.87 (-48.61 – 33.25)	1.0000	0.8620	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-2.19 (-57.11 – 64.68)	1.0000		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	116.64 (58.72 – 183.93)	1.35E-07	2.28E-10	2.03E-06	3.43E-09
	0 vs. 2	370.94 (158.55 – 725.81)	7.70E-07		1.15E-05	
SNP14	0 vs. 1	-3.83 (-47.37 – 37.76)	1.0000	0.9540	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	-6.19 (-66.27 – 66.93)	1.0000		>0.05	
MR						
SNP11	0 vs. 1	-0.07 (-39.35 – 39.87)	1.0000	0.0940	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	55.76 (-13.68 – 143.76)	0.0780		>0.05	
SNP13	0 vs. 1	66.73 (15.42 – 126.00)	1.06E-03	1.37E-05	1.59E-02	2.05E-04
	0 vs. 2	236.83 (71.35 – 521.33)	2.90E-04		4.35E-03	
SNP14	0 vs. 1	-1.57 (-43.57 – 38.73)	1.0000	0.6850	>0.05	>0.05
	0 vs. 2	20.48 (-46.47 – 104.28)	0.8900		>0.05	

^a Contraste basado en las medias marginales estimadas por el modelo con corrección por comparaciones múltiples (Bonferroni) entre los genotipos tomando como referencia el genotipo 0.

^b Contraste basado en las comparaciones por parejas, linealmente independientes, entre las medias marginales estimadas por el modelo 3.

^c P corregido por las 15 comparaciones (Bonferroni) para cada uno de los SNPs.

^d $P(M3)$ corregido por las 15 comparaciones (Bonferroni) para cada uno de los SNPs.

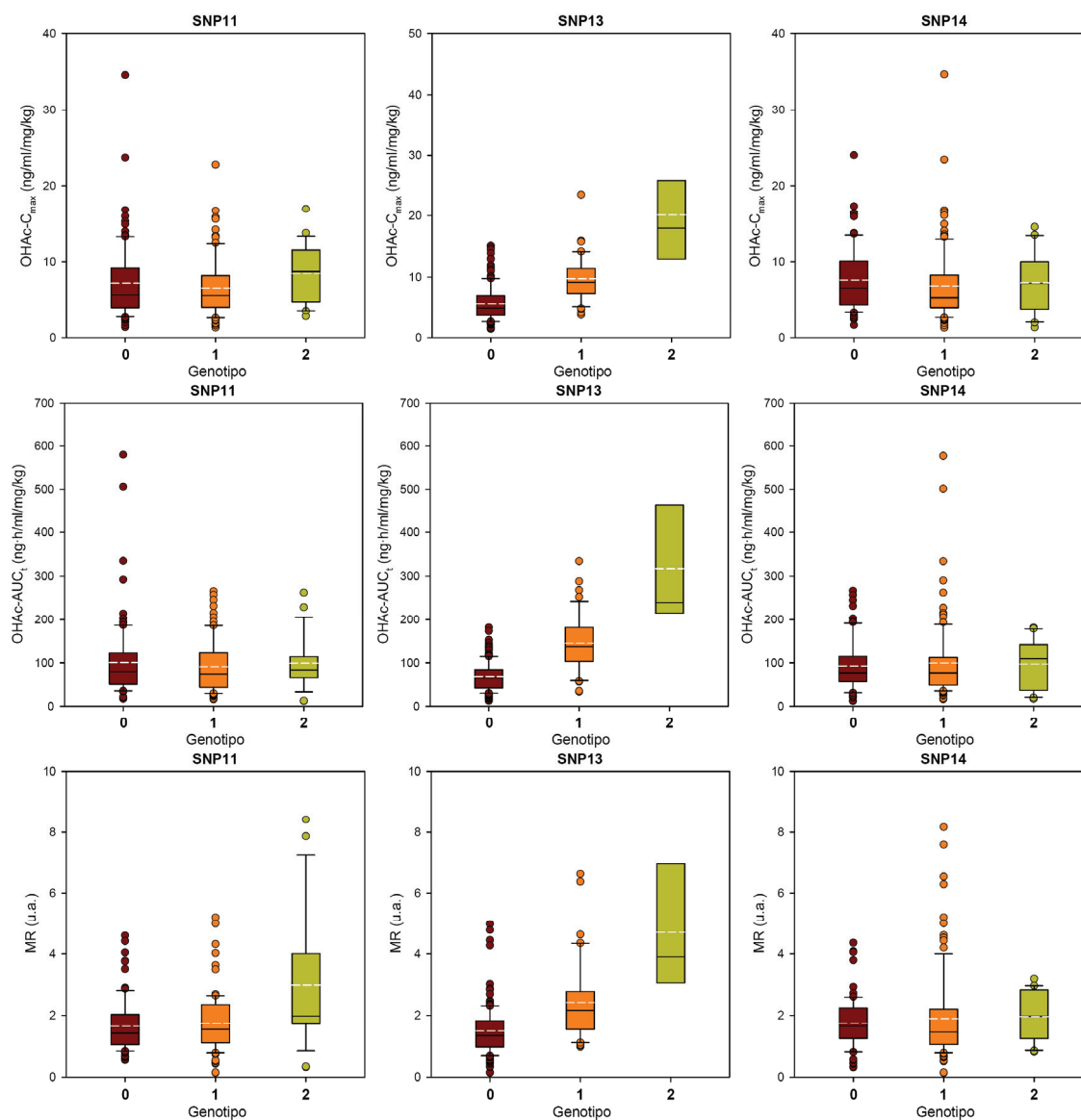


Figura 4.12. Diagramas de caja de los 3 SNPs con diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en al menos una de las variables cinéticas del hidroxiácido (OHAc) de lovastatina (3-LOVs) predichas por el modelo 3.

(SNP11: "0" n=48, "1" n=40, "2" n=12; SNP13: "0" n=70, "1" n=24, "2" n=4; SNP14: "0" n=36, "1" n=52, "2" n=10; dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; para la magnitud de las diferencias y los valores P ver **Tabla 4.14**).

Del mismo modo los valores del $AUC_{t_{dp}}$ del hidroxiácido de lovastatina fueron en los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado de media un 117% (IC95%: 59-184) y un 371% (IC95%: 158-723) más altos que los homocigotos para el alelo silvestre del SNP13, respectivamente. Esta tendencia, también, mantuvo su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=2.43 \times 10^{-9}$). Lo mismo ocurrió con los valores del MR que igualmente fueron en los portadores heterocigotos y homocigotos del alelo mutado de media un 67% (IC95%: 15-126) y un 237% (IC95%: 71-521) más altos que los homocigotos para el alelo silvestre del SNP13, respectivamente, manteniendo su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m3)}=2.05 \times 10^{-4}$).

4.3.4.- Modelo 4: Análisis de la interacción entre sexo y SNPs

Con el *modelo 4* se analizó la existencia de interacción entre el sexo y el genotipo de cada uno de los 15 SNPs, es decir, si el efecto del polimorfismo genético sobre las variables farmacocinéticas analizadas para pravastatina, simvastatina y lovastatina es diferente en hombres y en mujeres, una vez ajustadas por las demás variables independientes (formulación, periodo, secuencia, sexo y genotipo en el caso de 91-PRA y 84-SIM, y además ensayo, en el caso de 3-LOVs) incluidas en el modelo.

4.3.4.1.- Pravastatina

En la **Figura 4.13** se representan los valores medios de la vida media de eliminación ($t_{1/2}$) de pravastatina en función del sexo y del genotipo del SNP15 (rs2241409 C>T) del gen *CES2*. El efecto del SNP15 fue claramente diferente en ambos sexos ($P_{(m4)}=7.25 \times 10^{-4}$). En las mujeres las portadoras homocigotas del alelo mutado presentaron una $t_{1/2}$ más del doble que las homocigotas del alelo silvestre y claramente superior a la de los hombres con el mismo genotipo. En cambio, los hombres homocigotos para el alelo mutado presentaron una $t_{1/2}$ más baja que los portadores homocigotos del alelo silvestre. Esta interacción entre el sexo y el genotipo del SNP15 mantuvo su significación estadística tras la correspondiente corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m4)}=0.011$).

4.3.4.2.- Simvastatina

En el ensayo clínico con simvastatina (84-SIM) el *modelo 4* detectó la presencia de interacción entre el sexo y tres polimorfismos (SNP9, SNP11 y SNP13) para varias de las variables farmacocinéticas analizadas.

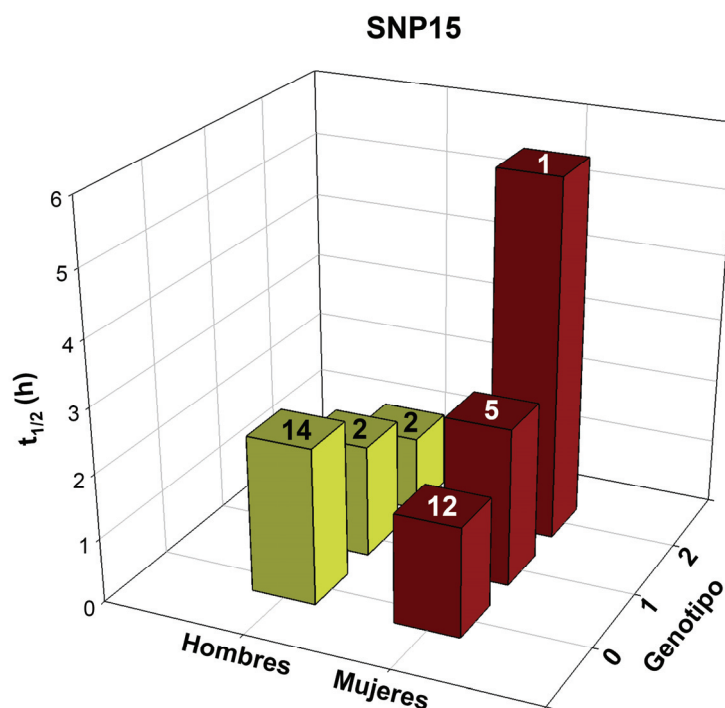


Figura 4.13. Representación gráfica de la interacción entre sexo y el SNP15 para la $t_{1/2}$ de pravastatina (91-PRA) detectada con el modelo 4.

(El valor P de la interacción sin y corregido por comparaciones múltiples fueron $P_{(m4)}=7.25 \times 10^{-4}$ y $P_{c(m4)}=0.011$, respectivamente; los números sobre las columnas representan el número de individuos por genotipo y sexo; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones ajustados por las covariables del *modelo 4*).

En el panel superior de la **Figura 4.14** se representan los valores medios del $AUC_{t_{dp}}$ de simvastatina en función del sexo y del genotipo del SNP9 (rs10487132 A>G) del gen *PON3*. El efecto del SNP9 fue claramente diferente en ambos sexos ($P_{(m4)}=0.0177$). En los hombres los portadores homocigotos del alelo mutado presentaron un $AUC_{t_{dp}}$ casi el triple que los homocigotos del alelo silvestre y claramente superior al de las mujeres con el mismo genotipo. En cambio, el $AUC_{t_{dp}}$ de las mujeres homocigotas para el alelo mutado fue más bajo que el de las portadoras homocigotas del alelo silvestre. No obstante, esta interacción no mantuvo su significación estadística tras la correspondiente corrección por comparaciones múltiples.

En el panel inferior de la **Figura 4.14** se representan los valores medios del CI/F de simvastatina en función del sexo y del genotipo del SNP9.

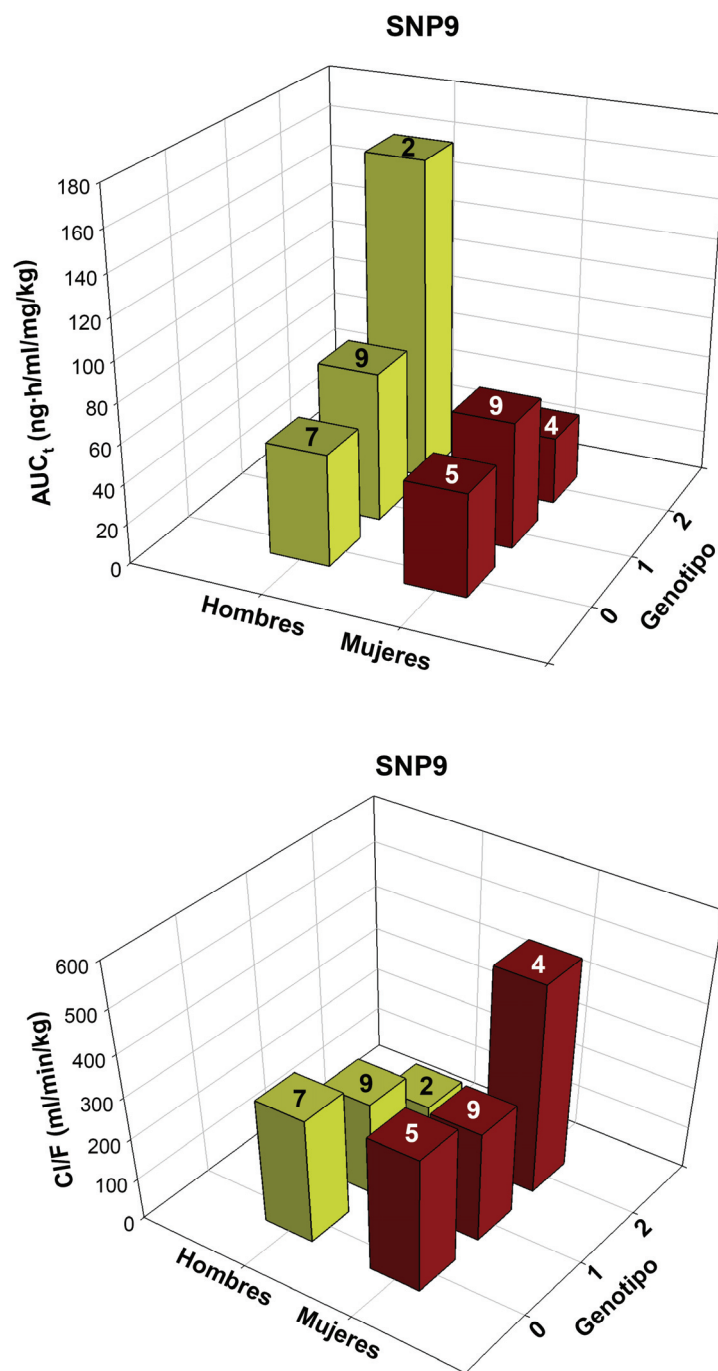


Figura 4.14. Representación gráfica de la interacción entre sexo y el SNP9 para el AUC_t y el Cl/F de simvastatina (84-SIM) detectadas con el modelo 4.

(Los valores P de la interacción sin y corregido por comparaciones múltiples fueron $P_{(m4)}=0.0177$ y $P_{c(m4)}>0.05$, para el AUC_t, y $P_{(m4)}= 0.0177$ y $P_{c(m4)}>0.05$, para el Cl/F, respectivamente; los números sobre las columnas representan el número de individuos por genotipo y sexo; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones ajustados por las covariables del modelo 4).

El efecto del SNP9 sobre el CI/F fue diferente en ambos sexos ($P_{(m4)}=0.0177$). A diferencia del AUC_{t_dp} , los hombres portadores homocigotos del alelo mutado presentaron un CI/F la mitad que el de los homocigotos del alelo silvestre y claramente inferior al de las mujeres con el mismo genotipo. A su vez las mujeres homocigotas para el alelo mutado presentaron un CI/F más alto que las portadoras homocigotas del alelo silvestre. Sin embargo, al igual que en el caso anterior, la interacción entre el sexo y el genotipo del SNP9 perdió su significación estadística tras la correspondiente corrección por comparaciones múltiples.

En el panel superior de la **Figura 4.15** se representan los valores medios del AUC_{t_dp} de simvastatina en función del sexo y del genotipo del SNP11 (rs5443 C>T) del gen *GNB3*. El efecto del SNP9 fue claramente diferente en ambos sexos ($P_{(m4)}=0.0177$), aunque no se detectaron entre los hombres portadores homocigotos del alelo mutado. En los hombres los portadoras homocigotos del alelo silvestre presentaron un AUC_{t_dp} casi el doble que el de las mujeres con el mismo genotipo. En cambio, las mujeres heterocigotas presentaron el AUC_{t_dp} más alto. Sin embargo, esta interacción perdió, también, su significación estadística tras la correspondiente corrección por comparaciones múltiples.

En el panel inferior de la **Figura 4.15** se representan los valores medios del CI/F de simvastatina en función del sexo y del genotipo del SNP11. La gráfica es una imagen especular de la del panel superior y al igual que ella tampoco mantuvo su significación estadística tras la correspondiente corrección por comparaciones múltiples.

En el panel superior e inferior de la **Figura 4.16** se representan los valores medios del C_{max_dp} del hidroxiácido (OHAc) y del MR de simvastatina en función del sexo y del genotipo del SNP13 (rs4149056 T>C o *1>*5) del gen *SLCO1B1*, respectivamente. Al igual que en el caso del SNP11 no se detectaron hombres portadores homocigotos del alelo mutado. De esta forma el efecto del SNP13 sobre la OHAc- C_{max_dp} y el MR fue claramente diferente en ambos sexos ($P_{(m4)}=4.47 \times 10^{-8}$ y 4.65×10^{-5} , respectivamente). Ambas interacciones mantuvieron su significación estadística tras la correspondiente corrección por comparaciones múltiples ($P_{c(m4)}=6.70 \times 10^{-7}$ y 6.98×10^{-4} , respectivamente).

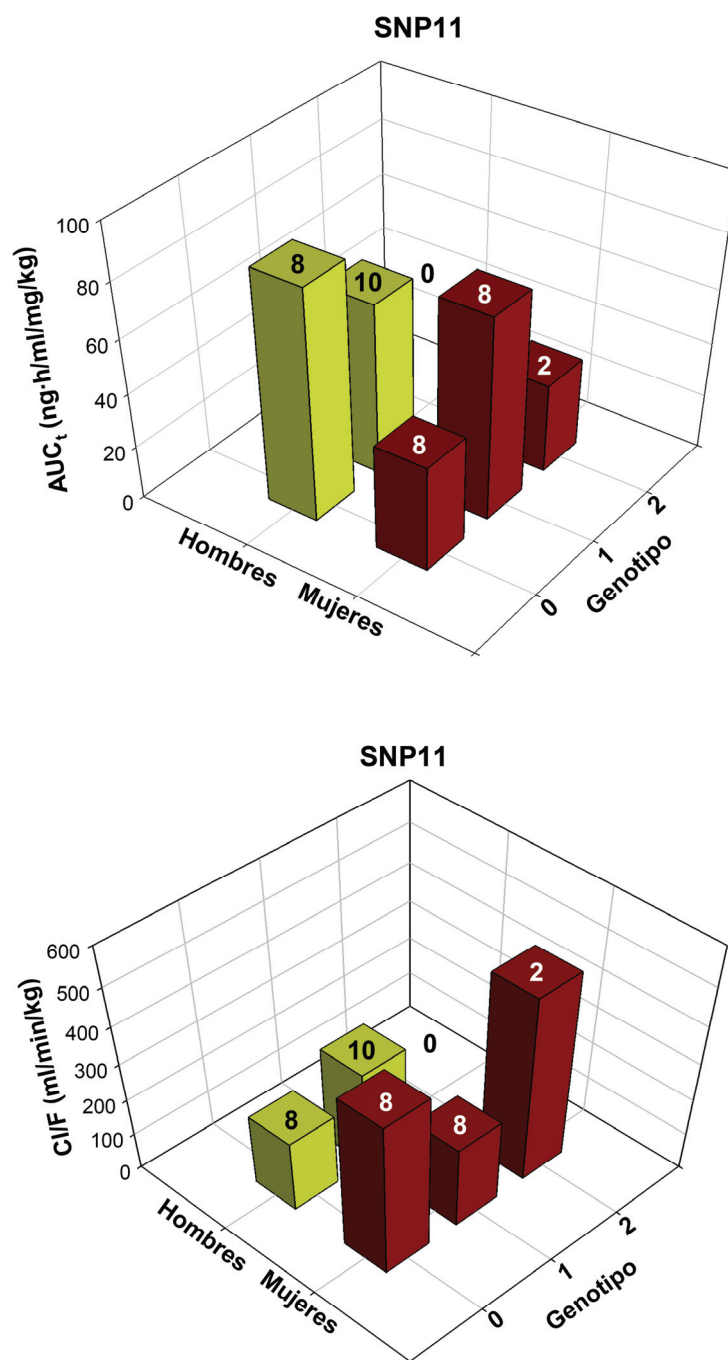


Figura 4.15. Representación gráfica de las interacciones entre sexo y el SNP11 para el AUC_t y el Cl/F de simvastatina (84-SIM) detectadas con el modelo 4.

(Los valores P de la interacción sin y corregido por comparaciones múltiples fueron $P_{(m4)}=0.0109$ y $P_{c(m4)}>0.05$, para el AUC_t, y $P_{(m4)}=0.0177$ y $P_{c(m4)}>0.05$, para el Cl/F, respectivamente; los números sobre las columnas representan el número de individuos por genotipo y sexo; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones ajustados por las covariables del modelo 4).

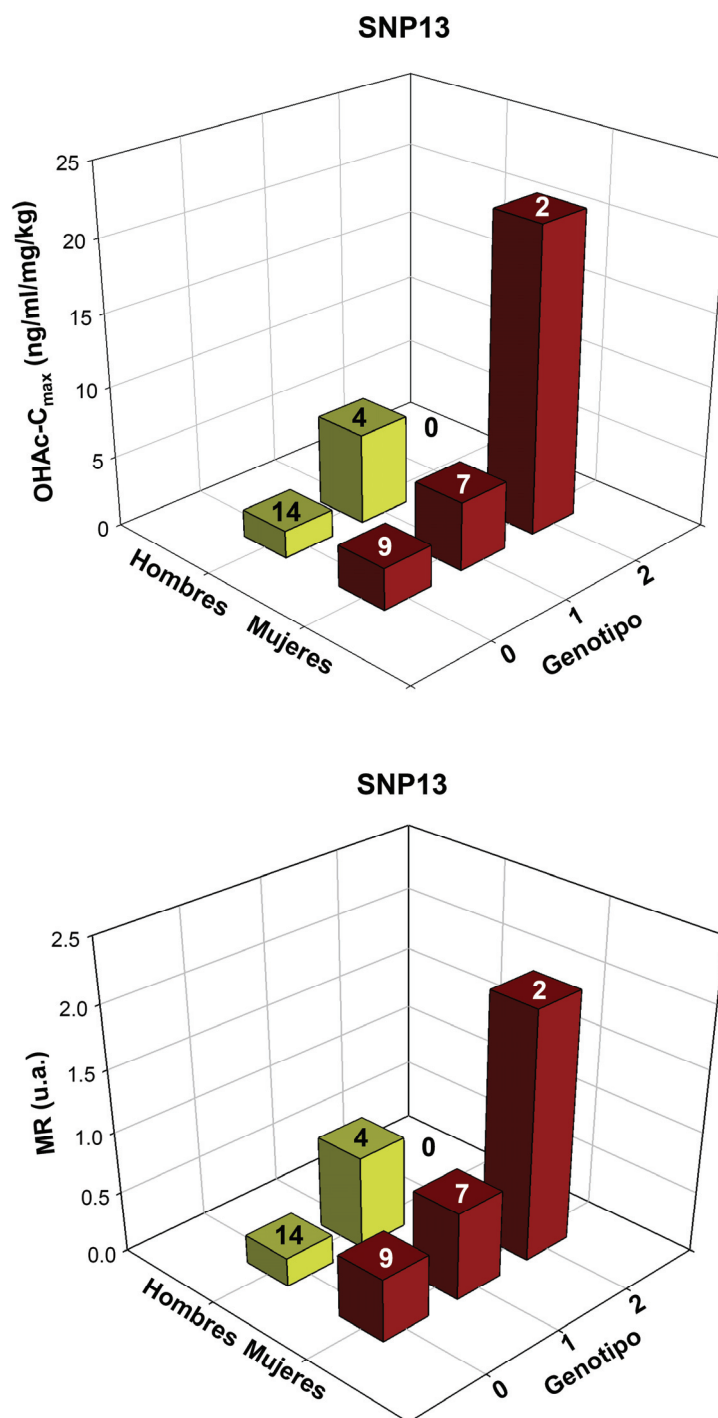


Figura 4.16. Representación gráfica de las interacciones entre sexo y el SNP13 para la OHAc-C_{max} y el MR de simvastatina (84-SIM) detectadas con el modelo 4.

(Los valores P de la interacción sin y corregido por comparaciones múltiples fueron $P_{(m4)}=4.47 \times 10^{-8}$ y $P_{c(m4)}= 6.70 \times 10^{-7}$, para el OHAc-C_{max} y $P_{(m4)}= 4.65 \times 10^{-5}$ y $P_{c(m4)}= 6.98 \times 10^{-4}$, para el MR, respectivamente; los números sobre las columnas representan el número de individuos por genotipo y sexo; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones ajustados por las covariables del modelo 4).

4.3.4.3.- Lovastatina

En el caso de la lovastatina (3-LOVs) el con *modelo 4* no detectaron interacciones entre el sexo y el genotipo de cada uno de los 15 SNPs en ninguna de las variables farmacocinéticas analizadas ajustadas por las demás variables independientes incluidas en el modelo.

4.4.- Análisis de las variables farmacocinéticas y farmacodinámicas con modelos de regresión lineal multivariante (RLM)

Hemos utilizado los modelos de RLM para explorar la relación lineal entre las variables cuantitativas farmacocinéticas y farmacodinámicas de las tres estatinas analizadas (91-PRA, 84-SIM y 3-LOVs) y varias covariables predictoras que incluían los 15 polimorfismos analizados y hemos identificado aquellas que explican una parte considerable de la variabilidad de las variables dependientes estudiadas.

4.4.1.- Variables farmacocinéticas

Hemos estimado la contribución de las distintas covariables independientes utilizando en los modelos de RLM como variable dependiente la suma de los valores de las variables farmacocinéticas correspondientes al periodo 1 y 2 de cada voluntario. Hemos considerado a estas nuevas variables farmacocinéticas “totales” (o “_t”) resultantes de la suma de las medidas repetidas de cada voluntario como una estimación aproximada de la cantidad total de fármaco a la que el individuo ha estado expuesto durante todo el ensayo. Con la utilización de modelos de RLM conseguimos integrar en el mismo modelo a todos los polimorfismos y no analizar su aportación de uno en uno en 15 modelos separados como hemos hecho en los modelos LMMR tres y cuatro.

4.4.1.1.- Pravastatina

En la **Tabla 4.15** se describe la selección de los modelos de RLM que explican una parte estadísticamente significativa de la variabilidad de las variables farmacocinéticas “totales” de pravastatina ($C_{\max_dp_t}$, $AUC_{t_dp_t}$ y CI/F_t) junto a la contribución de cada una de las covariables incluidas en ellos. La selección del mejor modelo se realizó mediante el método de los pasos sucesivos partiendo de 16 variables predictoras (sexo y SNP1-SNP15). El mismo procedimiento se aplicó en ambos sexos utilizando, en este caso, como covariables independientes sólo a los 15 SNPs.

Tabla 4.15. Modelo de RLM para las variables farmacocinéticas en el estudio 91-PRA.							
Modelo / Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR ²	P ^b	P ^c
C_{max}_dp_t (ng/ml/mg/kg)							
Todos (n=36)							
Modelo						0.7602	9.26E-11
(Constante)	607.132	(542.232 – 672.032)	-	1.09E-18	-	-	-
SNP13	351.833	(264.053 – 439.613)	0.697	3.12E-09	0.4856	4.69E-06	-
SNP12	-199.854	(-264.470 – -135.237)	-0.538	5.12E-07	0.2891	5.12E-07	-
Hombres (n=18)							
Modelo						0.6421	1.16E-04
(Constante)	600.904	(515.892 – 685.916)	-	4.42E-10	-	-	-
SNP12	-198.186	(-278.647 – -117.725)	-0.816	0.0001	0.6659	1.16E-04	-
Mujeres (n=18)							
Modelo						0.8691	5.05E-07
(Constante)	588.534	(494.170 – 682.897)	-	2.29E-09	-	-	-
SNP13	391.052	(301.603 – 480.501)	0.841	2.06E-07	0.5116	8.48E-04	-
SNP12	-269.544	(-355.686 – -183.402)	-0.608	9.92E-06	0.3115	1.21E-04	-
SNP4	88.224	(25.102 – 151.346)	0.265	0.0096	0.0692	0.0096	-
AUC₀₋₂₄_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)							
Todos (n=36)							
Modelo						0.7648	1.48E-09
(Constante)	1097.358	(930.761 – 1263.956)	-	5.19E-14	-	-	-
SNP13	683.663	(499.665 – 867.661)	0.678	2.23E-08	0.4083	4.75E-05	-
SNP12	-377.352	(-506.648 – -248.056)	-0.509	1.73E-06	0.2898	5.81E-06	-
SNP11	208.471	(81.125 – 335.816)	0.293	0.0023	0.0591	0.0112	-
SNP2	-116.065	(-221.706 – -10.424)	-0.209	0.0324	0.0360	0.0324	-
Hombres (n=18)							
Modelo						0.4278	0.0036
(Constante)	1177.979	(932.661 – 1423.297)	-	6.48E-08	-	-	-
SNP12	-378.315	(-610.500 – -146.129)	-0.683	0.0036	0.4659	0.0036	-

(continúa...)

Tabla 4.15. (Continúa)							
Modelo ^a /Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR ²	P ^b	R ² _c
Mujeres (n=18)							
Modelo							0.7793
(Constante)	1196.707	(963.576 – 1429.838)	-	2.80E-08	-	-	1.89E-05
SNP13	686.316	(465.327 – 907.306)	0.776	1.08E-05	0.4161	0.0038	
SNP12	-533.137	(-745.955 – -320.318)	-0.632	9.83E-05	0.3410	3.55E-04	
SNP4	157.736	(1.789 – 313.684)	0.250	0.0478	0.0611	0.0478	
CI/F _t (ml/min/kg)							
Todos (n=36)							
Modelo							0.6495
(Constante)	69.605	(51.757 – 87.453)	-	6.87E-09	-	-	1.33E-07
SNP12	43.625	(29.704 – 57.547)	0.660	4.59E-07	0.4417	1.81E-05	
SNP13	-31.916	(-50.912 – -12.921)	-0.355	0.0018	0.1476	0.0022	
SNP11	-19.325	(-32.728 – -5.922)	-0.305	0.0062	0.0921	0.0062	
Hombres (n=18)							
Modelo							0.6226
(Constante)	72.483	(46.479 – 98.488)	-	4.29E-05	-	-	7.01E-04
SNP12	44.954	(23.926 – 65.983)	0.735	4.81E-04	0.4892	0.0026	
SNP11	-24.405	(-43.921 – -4.890)	-0.430	0.0181	0.1837	0.0181	
Mujeres (n=18)							
Modelo							0.7280
(Constante)	62.374	(41.496 – 83.251)	-	1.63E-05	-	-	7.58E-05
SNP12	53.168	(34.110 – 72.227)	0.778	3.35E-05	0.3820	0.0063	
SNP13	-39.523	(-59.313 – -19.733)	-0.552	7.57E-04	0.2813	0.0030	
SNP4	-17.473	(-31.439 – -3.508)	-0.341	0.0178	0.1144	0.0178	

B, coeficientes de regresión no estandarizados o parámetros de la ecuación de regresión del modelo, no son comparables entre sí ya que poseen diferentes unidades de medida; **beta**, coeficientes de regresión estandarizados, comparables entre sí al carecer de unidades de medida; **dp**, variable ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; **IC95%**, intervalo de confianza del 95% de B que indica, con una confianza del 95%, el intervalo de cambio producido en la variable dependiente por cada unidad de cambio en la variable independiente; **R²**, coeficiente de determinación que representa la proporción de la variación total en la variable dependiente explicada por el modelo de regresión; **R²_c**, R² corregido para evitar su incremento ficticio procedente del número de variables independientes incluidas en el modelo y poder así comparar los R² de modelos con distinto número de variables independientes; **ΔR²**, cambio en R², indica el cambio que se produce en R² al añadir al modelo una de las variables independientes, su magnitud es un indicador de su capacidad predictiva de la variable dependiente y refleja la parte de la variabilidad explicada ajustada por el resto de variables independientes; **-t**, variable total, suma de ambos periodos del estudio

^a La selección del mejor modelo se ha realizado mediante el método de los pasos sucesivos partiendo de 16 variables independientes (sexo, SNP1-SNP15); ^a valor P del test de significación del coeficiente de regresión no estandarizado, indica que la contribución al modelo de la variable independiente es estadísticamente significativa o no;

^b valor P del test de significación del cambio en R², indica que el cambio es estadísticamente significativo o no;

^c valor P del test de significación global del modelo, indica que la parte de la variabilidad de la variable dependiente explicada por la ecuación de regresión estimada es estadísticamente significativa o no;

Para las tres variables farmacocinéticas evaluadas se identificaron modelos de RLM que explicaban una parte considerable de la variabilidad (76%, 76% y 65% para la $C_{max_dp_t}$, el $AUC_{t_dp_t}$ y el Cl/F_t , respectivamente). En ninguno de estos modelos el sexo explicaba una parte significativa de la variabilidad. Las únicas variables explicativas retenidas por los modelos fueron los diferentes polimorfismos.

En el caso de la $C_{max_dp_t}$ el SNP12 y SNP13 del gen *SLCO1B1* explicaban el 29% y 48% de su variabilidad, respectivamente. Por cada alelo mutado del SNP12 (G o *1b) la C_{max} de pravastatina se reducía con 200 ng/ml/mg/kg (IC95%: 135-264). En cambio, por cada alelo mutado del SNP13 (C o *5) aumentaba con 352 unidades (IC95%: 264-440). Cuando analizamos ambos sexos por separado observamos que en los hombres la única variable predictiva retenida por el modelo fue el SNP12 que explicaba el 67% de la variabilidad. En cambio, en las mujeres las variables retenidas por el modelo fueron nuevamente el SNP13 y el SNP12 junto con el SNP4 del gen *NR1I2* y explicaban 51%, 31% y 7% de la variabilidad, respectivamente. Por cada alelo mutado del SNP4 (T) la $C_{max_dp_t}$ aumentaba con 88 ng/ml/mg/kg (IC95%: 25-151).

Los polimorfismos retenidos por el modelo del $AUC_{t_dp_t}$ de pravastatina fueron el SNP13 y el SNP12 del gen *SLCO1B1*, el SNP11 del gen *GNB3* y el SNP2 del gen *NR1I3*, y explicaban 41%, 29%, 6% y 3.6% de la variabilidad, respectivamente. El SNP11 seguía la tendencia del SNP13 y por cada alelo mutado (T) los niveles aumentaban 208 ng·h/ml/mg/kg (IC95%: 81-336). En cambio, el SNP2 seguía la tendencia del SNP12 y por cada alelo mutado (T) los niveles descendían 116 unidades (IC95%: 10-222). En los hombres el único polimorfismo retenido por el modelo era el SNP12 que llegaba a explicar el 47% de la variabilidad. El SNP13 y el SNP12 del gen *SLCO1B1*, y el SNP4 del gen *NR1I2* explicaban el 42%, 34% y 6% de la variabilidad en las mujeres, respectivamente. Y al igual que ocurría con la $C_{max_dp_t}$ en las mujeres, el SNP4 se asociaba con un aumento del $AUC_{t_dp_t}$, en este caso, de 158 unidades (IC95%: 2-314) por cada alelo mutado.

El modelo de RLM del aclaramiento (Cl/F_t) de pravastatina los polimorfismos retenidos fueron el SNP12 y el SNP13 del gen *SLCO1B1*, y el SNP11 del gen *GNB3* que explicaban un 44%, 15% y 9%, respectivamente. Al contrario que con el $AUC_{t_dp_t}$, por cada alelo mutado del SNP12 el aclaramiento aparente aumentaba 44 ml/min/kg (IC95%: 30-57). En cambio, con el SNP13 y el SNP11, se reducía 32

(IC95%: 13-51) y 20 (IC95%: 6-33) unidades, respectivamente. Los dos polimorfismos retenidos por el modelo en los hombres fueron el SNP12 y el SNP11 que explicaban 49% y 18% de la variabilidad, respectivamente. En cambio, en las mujeres los polimorfismos que explicaba 38%, 28% y 11% de la variabilidad, fueron el SNP12, el SNP13 y el SNP4, respectivamente. Por cada alelo mutado del SNP4 el aclaramiento aparente de pravastatina descendía 17 unidades (IC95%: 3-31).

4.4.1.2.- Simvastatina

En la **Tabla 4.16** se describe la selección de los modelos de RLM que explican una parte estadísticamente significativa de la variabilidad de las variables farmacocinéticas "totales" de la lactona ($C_{\max_dp_t}$, $AUC_{t_dp_t}$ y Cl/F_t) y del hidroxiácido de simvastatina ($C_{\max_dp_t}$, $AUC_{t_dp_t}$ y MR_t) junto a la contribución de cada una de las covariables incluidas en ellos. Al igual que con pravastatina, la selección del mejor modelo se realizó mediante el método de los pasos sucesivos partiendo de 16 variables predictoras (sexo y SNP1-SNP15). El mismo procedimiento se aplicó en ambos sexos utilizando, en este caso, como covariables independientes sólo a los 15 SNPs.

No se detectó ningún modelo de RLM que explicara una parte significativa de la variabilidad de las variables farmacocinéticas de la lactona de simvastatina. La única excepción fue el modelo para el $AUC_{t_dp_t}$ en hombres que retuvo el SNP9 del gen *PON3* como la única variable predictiva capaz de explicar el 27% de la variabilidad. Por cada alelo mutado del SNP9 el $AUC_{t_dp_t}$ de la lactona aumentaba 60 ng·h/ml/mg/kg (IC95%: 8-111).

El sexo tampoco explicaba una parte significativa de la variabilidad de las variables farmacocinéticas del hidroxiácido (OHAc) de simvastatina. Para las tres variables farmacocinéticas evaluadas se identificaron modelos de RLM que explicaban una parte considerable de la variabilidad (60%, 60% y 40% para la $C_{\max_dp_t}$, el $AUC_{t_dp_t}$ y el MR_t , respectivamente). El porcentaje de la variabilidad en la $C_{\max_dp_t}$ del OHAc explicada por el SNP13 del gen *SLCO1B1* y el SNP8 del gen *ABCB1* fue 57% y 5%, respectivamente. Por cada alelo mutado del SNP13 y el SNP8 la $C_{\max_dp_t}$ aumentaba 13 ng/ml/mg/kg (IC95%: 9-17) y 4 (IC95%: 0.12-7) unidades, respectivamente. En las mujeres la única variable predictora era el SNP13 que explicaba el 54% de la variabilidad. En cambio, en los hombres el SNP13 explicaba el 76% de la variabilidad acompañado por el SNP9 del gen *PON3* y el SNP14 del gen *CYP1A2* que contribuían con el 8% y 6%, respectivamente.

Tabla 4.16. Modelo de RLM para las variables farmacocinéticas en el estudio 84-SIM.						
Modelo*/Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR ²	P ^b R ^c P ^c
Lactona						
C _{max} _dp_t (ng/ml/mg/kg)						
Todos (n=36)						
Modelo						ninguno
Hombres (n=18)						
Modelo						ninguno
Mujeres (n=18)						
Modelo						ninguno
AUC_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)						
Todos (n=36)						
Modelo						ninguno
Hombres (n=18)						
Modelo						0.2275 0.0261
(Constante)	122.823	(72.734 – 172.912)	-	8.79E-05	-	-
SNP9	59.583	(8.042 – 111.124)	0.522	0.0261	0.2729	0.0261
Mujeres (n=18)						
Modelo						ninguno
Cl/F_t (ml/min/kg)						
Todos (n=36)						
Modelo						ninguno
Hombres (n=18)						
Modelo						ninguno
Mujeres (n=18)						
Modelo						ninguno

(continúa...)

Tabla 4.16. (Continúa)

Modelo / Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR ²	P ^b	R ^{c2}	P ^c
Hidroxiácido								
C_{max}_dp_t (ng/ml/mg/kg)								
Todos (n=36)								
Modelo							0.6004	1.60E-07
(Constante)	0.901 (-3.133 – 4.934)		-	0.6524	-	-		
SNP13	13.053 (9.196 – 16.909)		0.748	8.37E-08	0.5719	1.49E-07		
SNP8	3.672 (0.117 – 7.228)		0.228	0.0433	0.0520	0.0433		
Hombres (n=18)								
Modelo							0.8871	1.81E-07
(Constante)	1.694 (0.158 – 3.230)		-	0.0330	-	-		
SNP13	9.310 (7.565 – 11.055)		0.954	1.72E-08	0.7636	2.15E-06		
SNP9	1.786 (0.675 – 2.896)		0.286	0.0039	0.0844	0.0113		
SNP14	1.510 (0.423 – 2.597)		0.245	0.0099	0.0590	0.0099		
Mujeres (n=18)								
Modelo							0.5088	7.85E-04
(Constante)	3.494 (-3.266 – 10.255)		-	0.2880	-	-		
SNP13	14.580 (7.167 – 21.992)		0.735	7.85E-04	0.5395	7.85E-04		
AUC₀_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)								
Todos (n=36)								
Modelo							0.6033	1.43E-07
(Constante)	50.392 (22.408 – 78.376)		-	8.81E-04	-	-		
SNP13	114.247 (82.440 – 146.054)		0.811	2.56E-08	0.5781	1.16E-07		
SNP11	-32.071 (-64.124 – -0.019)		-0.226	0.0499	0.0485	0.0499		
Hombres (n=18)								
Modelo							0.8432	3.60E-07
(Constante)	21.831 (9.015 – 34.647)		-	0.0025	-	-		
SNP13	82.629 (63.878 – 101.380)		0.917	1.13E-07	0.7169	9.36E-06		
SNP9	22.282 (10.294 – 34.270)		0.387	0.0013	0.1447	0.0013		

(continúa...)

Tabla 4.16. (Continúa)

Modelo ^a /Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR^2	P ^b	R ² _c	P ^c
Mujeres (n=18)								
Modelo							0.5145	7.16E-04
(Constante)	28.618	(-25.343 – 82.579)	-	0.2761	-	-		
SNP13	117.634	(58.467 – 176.802)	0.738	7.16E-04	0.5449	7.16E-04		
MR_t								
Todos (n=36)								
Modelo							0.4043	2.43E-05
(Constante)	0.383	(0.203 – 0.564)	-	1.33E-04	-	-		
SNP13	0.599	(0.350 – 0.847)	0.649	2.43E-05	0.4218	2.43E-05		
Hombres (n=18)								
Modelo							0.6963	5.14E-05
(Constante)	0.312	(0.185 – 0.439)	-	9.72E-05	-	-		
SNP13	0.823	(0.545 – 1.102)	0.971	1.40E-05	0.6464	5.81E-05		
SNP5	-0.199	(-0.392 – -0.005)	-0.337	0.0448	0.0857	0.0448		
Mujeres (n=18)								
Modelo							0.2279	0.0303
(Constante)	0.568	(0.183 – 0.954)	-	0.0057	-	-		
SNP13	0.475	(0.052 – 0.898)	0.525	0.0303	0.2761	0.0303		

B, coeficientes de regresión no estandarizados o parámetros de la ecuación de regresión del modelo, no son comparables entre sí ya que poseen diferentes unidades de medida; **beta**, coeficientes de regresión estandarizados, comparables entre sí al carecer de unidades de medida; **ΔR^2** , variable ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; **IC95%**, intervalo de confianza del 95% de B que indica, con una confianza del 95%, el intervalo de cambio producido en la variable dependiente por cada unidad de cambio en la variable independiente; **R²**, coeficiente de determinación que representa la proporción de la variación total en la variable dependiente explicada por el modelo de regresión; **R²**, R² corregido para evitar su incremento ficticio procedente del número de variables independientes incluidas en el modelo y poder así comparar los R² de modelos con distinto número de variables independientes; **ΔR^2** , cambio en R², indica el cambio que se produce en R² al añadir al modelo una de las variables independientes, su magnitud es un indicador de su capacidad predictiva de la variable dependiente y refleja la parte de la variabilidad explicada ajustada por el resto de variables independientes; **t**, variable total, suma de ambos periodos del estudio

* La selección del mejor modelo se ha realizado mediante el método de los pasos sucesivos partiendo de 16 variables independientes (sexo, SNP1-SNP15);

^a valor P del test de significación del coeficiente de regresión no estandarizado, indica que la contribución al modelo de la variable independiente es estadísticamente significativa o no;

^b valor P del test de significación del cambio en R², indica que el cambio es estadísticamente significativo o no;

^c valor P del test de significación global del modelo, indica que la parte de la variabilidad de la variable dependiente explicada por la ecuación de regresión estimada es estadísticamente significativa o no;

En el modelo de RLM del $AUC_{t_dp_t}$ del OHAc de simvastatina el SNP13 del gen *SLCO1B1* y el SNP11 del gen *GNB3* explicaban el 58% y el 5%, respectivamente. Mientras que el SNP13 se asociaba con un aumento de 114 (IC95%: 82-146) unidades por cada alelo mutado del SNP11 el $AUC_{t_dp_t}$ descendía 32 ng·h/ml/mg/kg (IC95%: 0.02-64). En las mujeres el única variable predictora era el SNP13 que explicaba el 55% de la variabilidad. En cambio, en los hombres el SNP13 explicaba el 72% de la variabilidad junto con el SNP9 del gen *PON3* que contribuía con el 14%.

En el caso del modelo de RLM del MR_t ("metabolic ratio" o cociente metabólico) el SNP13 del gen *SLCO1B1* explicaba el 42% de la variabilidad. Sin embargo, en las mujeres este porcentaje se reducía al 28%, mientras que en los hombres alcanzaba el 65% acompañado por el SNP5 del gen *NR1I2* que contribuía a explicar otro 5% de la variabilidad del MR.

4.4.1.3.- Lovastatina

En la **Tabla 4.17** se describe la selección de los modelos de RLM que explican una parte estadísticamente significativa de la variabilidad de las variables farmacocinéticas "totales" de la lactona ($C_{max_dp_t}$, $AUC_{t_dp_t}$ y Cl/F_t) y del hidroxíácido de lovastatina ($C_{max_dp_t}$, $AUC_{t_dp_t}$ y MR_t) junto a la contribución de cada una de las covariables incluidas en ellos. La selección del mejor modelo se realizó mediante el método de los pasos sucesivos, pero a diferencia de la pravastatina y la simvastatina, se partió de 17 variables predictoras (ensayo, sexo y SNP1-SNP15) al provenir los datos de tres ensayos de bioequivalencia de lovastatina independientes. El mismo procedimiento se aplicó en ambos sexos utilizando, en este caso, como covariables independientes al ensayo y a los 15 SNPs.

En todos los modelos de RLM de las variables farmacocinéticas de la lactona de lovastatina el sexo fue una covariable que explicaba una variabilidad estadísticamente significativa. En cambio, no fue retenido en ninguno de los modelos de las variables farmacocinéticas del hidroxíácido. Además los modelos de RLM de las variables farmacocinéticas de la lactona explicaban entre un 9 y un 20% de la variabilidad, en cambio, los del hidroxíácido entre un 28 y un 49%.

Tabla 4.17. Modelo de RLM para las variables farmacocinéticas en el estudio 3-LOVs.

Modelo*/Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR ²	P ^b	R ²	P ^c
Lactona								
C_{max}_dp_t (ng/ml/mg/kg)								
Todos (n=100)								
Modelo							0.1349	1.48E-04
(Constante)	14.017	(11.071 – 16.962)	-	2.98E-15	-	-		
Sexo	-3.735	(-5.609 – -1.861)	-0.380	1.48E-04	0.1441	1.48E-04		
Hombres (n=51)								
Modelo							ninguno	
Mujeres (n=49)								
Modelo							ninguno	
AUC₀₋₂₄_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)								
Todos (n=100)								
Modelo							0.1966	4.06E-05
(Constante)	182.302	(139.999 – 224.604)	-	2.62E-13	-	-		
Sexo	-38.369	(-64.923 – -11.816)	-0.267	0.0051	0.0712	0.0090		
SNP13	44.095	(19.595 – 68.595)	0.338	0.0006	0.0821	0.0036		
SNP11	-28.094	(-47.749 – -8.439)	-0.269	0.0056	0.0689	0.0056		
Hombres (n=51)								
Modelo							ninguno	
Mujeres (n=49)								
Modelo							0.2563	1.48E-03
(Constante)	102.995	(79.103 – 126.886)	-	4.24E-11	-	-		
SNP13	46.760	(18.461 – 75.058)	0.436	0.0018	0.1604	0.0053		
SNP11	-25.899	(-47.800 – -3.997)	-0.312	0.0215	0.0960	0.0215		
Cl/F_t (ml/min/kg)								
Todos (n=100)								
Modelo							0.0932	4.13E-03
(Constante)	516.513	(110.562 – 922.465)	-	0.0132	-	-		
Sexo	325.438	(86.085 – 564.790)	0.266	0.0082	0.0654	0.0124		
SNP9	-203.146	(-385.744 – -20.548)	-0.217	0.0296	0.0471	0.0296		

(continúa...)

Tabla 4.17. (Continúa)							
Modelo */Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR ²	P ^b	R _c ² P ^c
Hombres (n=51)							
Modelo							ninguno
Mujeres (n=49)							
Modelo							ninguno
Hidroxiácido							
C_{max}_dp_t (ng/ml/mg/kg)							
Todos (n=100)							
Modelo							0.2869 1.34E-08
(Constante)	11.930 (9.660 – 14.199)		-	2.43E-17	-	-	
SNP13	11.146 (7.594 – 14.699)		0.543	1.34E-08	0.2945	1.34E-08	
Hombres (n=51)							
Modelo							0.3323 1.34E-04
(Constante)	13.020 (9.697 – 16.343)		-	6.53E-10	-	-	
SNP13	9.017 (4.673 – 13.361)		0.537	1.38E-04	0.1942	0.0019	
SNP5	7.232 (2.426 – 12.038)		0.377	0.0041	0.0918	0.0218	
SNP12	-4.716 (-8.541 – -0.892)		-0.328	0.0168	0.0898	0.0168	
Mujeres (n=49)							
Modelo							0.5567 7.62E-08
(Constante)	1.665 (-5.545 – 8.874)		-	0.6437	-	-	
SNP13	17.771 (12.504 – 23.038)		0.756	2.73E-08	0.3799	3.97E-06	
SNP8	7.594 (3.537 – 11.650)		0.389	4.93E-04	0.1025	0.0051	
SNP12	-6.404 (-10.701 – -2.108)		-0.356	0.0044	0.0581	0.0244	
Ensayo	3.943 (0.603 – 7.284)		0.248	0.0218	0.0547	0.0218	
AUC₀_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)							
Todos (n=100)							
Modelo							0.4875 1.65E-14
(Constante)	156.890 (123.286 – 190.494)		-	7.75E-15	-	-	
SNP13	209.687 (166.099 – 253.275)		0.719	1.98E-15	0.4723	1.46E-14	
SNP11	-38.400 (-73.302 – -3.497)		-0.164	0.0314	0.0260	0.0314	

(continúa...)

Tabla 4.17. (Continúa)

Modelo* /Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR ²	P ^b	R ² _c	P ^c
Hombres (n=51)								
Modelo							0.5987	2.99E-09
(Constante)	160.756 (119.534 – 201.979)		-	7.38E-10	-	-		
SNP13	205.501 (151.481 – 259.522)		0.763	1.39E-09	0.4718	9.75E-08		
SNP6	108.391 (47.809 – 168.972)		0.345	7.98E-04	0.0830	0.0064		
SNP12	-66.394 (-113.670 – -19.119)		-0.288	0.0070	0.0700	0.0070		
Mujeres (n=49)								
Modelo							0.5219	3.35E-08
(Constante)	64.786 (3.608 – 125.964)		-	0.0384	-	-		
SNP13	223.379 (159.088 – 287.670)		0.716	1.13E-08	0.4897	4.41E-08		
SNP8	59.871 (6.418 – 113.323)		0.231	0.0290	0.0530	0.0290		
MR_t								
Todos (n=100)								
Modelo							0.2818	9.08E-08
(Constante)	1.250 (0.918 – 1.583)		-	4.69E-11	-	-		
SNP13	1.175 (0.743 – 1.607)		0.482	5.09E-07	0.2664	8.61E-08		
SNP11	0.349 (0.003 – 0.694)		0.178	0.0482	0.0306	0.0482		
Hombres (n=51)								
Modelo							0.3308	1.41E-05
(Constante)	1.247 (0.914 – 1.579)		-	1.58E-09	-	-		
SNP13	1.342 (0.787 – 1.896)		0.588	1.41E-05	0.3453	1.41E-05		
Mujeres (n=49)								
Modelo							0.1823	1.62E-03
(Constante)	1.679 (1.221 – 2.137)		-	2.77E-09	-	-		
SNP13	1.127 (0.450 – 1.804)		0.447	0.0016	0.2001	0.0016		

B, coeficientes de regresión no estandarizados o parámetros de la ecuación de regresión del modelo, no son comparables entre sí ya que poseen diferentes unidades de medida; **beta**, coeficientes de regresión estandarizados, comparables entre sí al carecer de unidades de medida; **dp**, variable ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; **IC95%**, intervalo de confianza del 95% de B que indica, con una confianza del 95%, el intervalo de cambio producido en la variable dependiente por cada unidad de cambio en la variable independiente; **R²**, coeficiente de determinación que representa la proporción de la variación total en la variable dependiente explicada por el modelo de regresión; **R²_c**, R² corregido para evitar su incremento ficticio procedente del número de variables independientes incluidas en el modelo y poder así comparar los R² de modelos con distinto número de variables independientes; **ΔR²**, cambio en R², indica el cambio que se produce en R² al añadir al modelo una de las variables independientes, su magnitud es un indicador de su capacidad predictiva de la variable dependiente y refleja la parte de la variabilidad explicada ajustada por el resto de variables independientes; **-t**, variable total, suma de ambos periodos del estudio

* La selección del mejor modelo se ha realizado mediante el método de los pasos sucesivos partiendo de 17 variables independientes (ec, sexo, SNP1-SNP15);

^a valor P del test de significación del coeficiente de regresión no estandarizado, indica que la contribución al modelo de la variable independiente es estadísticamente significativa o no;

^b valor P del test de significación del cambio en R², indica que el cambio es estadísticamente significativo o no;

^c valor P del test de significación global del modelo, indica que la parte de la variabilidad de la variable dependiente explicada por la ecuación de regresión estimada es estadísticamente significativa o no;

La única covariable retenida en el modelo de la $C_{\max_dp_t}$ de la lactona fue el sexo que explicaba 14% de su variabilidad, siendo 3.7 (IC95%: 1.9-5.6) ng/ml/mg/kg más baja en las mujeres. Para la $C_{\max_dp_t}$ de la lactona no se detectó ningún modelo que explicara una parte significativa de su variabilidad en los hombres ni en las mujeres analizados por separado.

El modelo para el $AUC_t_dp_t$ de la lactona retuvo al sexo, al SNP13 del gen *SLCO1B1* y al SNP11 del gen *GNB3* como las variables predictivas capaces de explicar el 7%, el 8% y el 7% de la variabilidad, respectivamente. En las mujeres el $AUC_t_dp_t$ fue 38 ng·h/ml/mg/kg (IC95%: 12-65) más bajo que en los hombres. Por cada alelo mutado del SNP13 el $AUC_t_dp_t$ de la lactona aumentaba 44 ng·h/ml/mg/kg (IC95%: 19-69). En cambio, por cada alelo mutado del SNP11 el AUC_t se reducía 28 ng·h/ml/mg/kg (IC95%: 8-48).

Las dos únicas covariables retenidas por el modelo del aclaramiento aparente total (Cl/F_t) de la lactona de lovastatina fueron el sexo y el SNP9 del gen *PON3* explicaban el 6.5% y el 4.7% de su variabilidad, respectivamente. El Cl/F_t fue 325 ml/min/kg (IC95%: 86-565) más alto en las mujeres que en los hombre. En cambio, por cada alelo mutado del SNP9 el Cl/F_t se reducía 203 ml/min/kg (IC95%: 20-386). Para el Cl/F_t de la lactona no se detectó ningún modelo que explicara una parte significativa de su variabilidad en los hombres ni en las mujeres analizados por separado.

Para las tres variables farmacocinéticas del hidroxiácido (OHAc) evaluadas se identificaron modelos de RLM que explicaban una parte considerable de la variabilidad (29%, 49% y 28% para la $C_{\max_dp_t}$, el $AUC_t_dp_t$ y el MR_t , respectivamente). La única covariable que explicaba un porcentaje significativo de la variabilidad de la $C_{\max_dp_t}$ del OHAc era el SNP13 del gen *SLCO1B1*. Por cada alelo mutado del SNP13 la $C_{\max_dp_t}$ aumentaba 11 ng/ml/mg/kg (IC95%: 8-15). En los hombres las variables predictoras que explicaban el 19%, el 9% y el 9.2% de la variabilidad fueron el SNP13 y el SNP12 del gen *SLCO1B1*, el SNP5 del gen *NR1I2*, respectivamente. Por cada alelo mutado del SNP13 y el SNP5 la $C_{\max_dp_t}$ del OHAc aumentaba 9 (IC95%: 5-13) y 7 (IC95%: 2-12) ng/ml/mg/kg, respectivamente. En cambio, por cada alelo mutado del SNP12 se reducía 5 (IC95%: 0.9-8.5) ng/ml/mg/kg. En las mujeres las variables predictoras retenidas por el modelo fueron el SNP13, el SNP8 del gen *ABCB1*, el SNP12 y el factor ensayo que explicaban el 38%, el 10%, el 5.8% y el 5.5% de la variabilidad de la $C_{\max_dp_t}$ del OHAc, respectivamente. Por cada alelo mutado del SNP13 y el SNP8

la $C_{max_dp_t}$ del OHAc aumentaba 18 (IC95%: 12-23) y 8 (IC95%: 3-12) ng/ml/mg/kg, respectivamente. En cambio, por cada alelo mutado del SNP12 se reducía 6 (IC95%: 2-11) ng/ml/mg/kg. Por cada ensayo de bioequivalencia adicional (78-LOV y 92-LOV) la $C_{max_dp_t}$ aumentaba 4 (IC95%: 0.6-7) unidades.

La únicas covariable que explicaba un porcentaje significativo de la variabilidad del $AUC_{t_dp_t}$ del OHAc eran el SNP13 del gen *SLCO1B1* y el SNP11 del gen *GNB3* que explicaban el 47% y el 3%, respectivamente. Por cada alelo mutado del SNP13 y del SNP11 el $AUC_{t_dp_t}$ aumentaba 210 (IC95%: 166-253) y se reducía 38 (IC95%: 3.5-73) ng·h/ml/mg/kg, respectivamente. En los hombres las variables predictoras que explicaban el 47%, el 8% y el 7% de la variabilidad fueron el SNP13, el SNP6 del gen *NR1I2* y el SNP12, respectivamente. Por cada alelo mutado del SNP13 y el SNP6 el $AUC_{t_dp_t}$ del OHAc aumentaba 205 (IC95%: 151-259) y 108 (IC95%: 48-169) ng·h/ml/mg/kg, respectivamente. En cambio, por cada alelo mutado del SNP12 se reducía 66 (IC95%: 19-114) ng/ml/mg/kg. En las mujeres las variables predictoras retenidas por el modelo fueron el SNP13, el SNP8 del gen *ABCB1* que explicaban el 49% y el 5% de la variabilidad del $AUC_{t_dp_t}$ del OHAc, respectivamente. Por cada alelo mutado del SNP13 y el SNP8 el $AUC_{t_dp_t}$ aumentaba 223 (IC95%: 159-288) y 60 (IC95%: 6-113) ng·h/ml/mg/kg, respectivamente.

Por último, el SNP13 y el SNP11 fueron las únicas covariables retenidas por el modelo de RLM del MR_t y explicaban el 27% y el 3% de su variabilidad, respectivamente. Por cada alelo mutado del SNP13 y del SNP11 el MR_t aumentaba 1.17 (IC95%: 0.7-1.6) y 0.35 (IC95%: 0.003-0.7) unidades arbitrarias, respectivamente. Al analizar a los hombres y a las mujeres por separado el SNP13 explicaba el 34% y el 20% de la variabilidad, respectivamente.

4.4.2.- Variables farmacodinámicas (eficacia hipolipemiente)

En la población de estudio (CFC-ESP, n=207) se analizaron los niveles basales, el cambio en los valores de colesterol total (CT) y triglicéridos (TG), y el tiempo transcurrido en días desde la última dosis de fármaco recibida en el correspondiente ensayo clínico hasta su determinación bioquímica en el periodo de seguridad. El análisis se realizó en dos conjuntos de datos; en el primero, se tuvieron en cuenta a todas las determinaciones de CT y TG de los voluntarios que han participado en más de un ensayo clínico y por tanto tenían más de una determinación (CFC-ESP *repetidos*, n=252), y en el segundo, se analizó sólo una determinación de CT y TG

por voluntario, incluyendo sólo la determinación del primer ensayo clínico en el que han participado los voluntarios que han repetido en varios.

En la **Figura 4.17** se representan los diagramas de caja de los niveles basales de CT y TG junto al cambio en los mismos en los voluntarios que han participado en ensayos con estatinas (n=180) y los que lo han hecho en ensayos con fármacos sin efecto hipolipemiente como la loperamida o la mirtazapina (n=72) (CFC-ESP *repetidos*, n=252). No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles basales de CT entre ambos grupos. Los valores medios de CT basal en el grupo con estatinas y en el con no estatinas fueron 165 (± 29) y 162 (± 23) mg/dl, respectivamente (**Tabla 4.18**).

En cuanto al cambio en los niveles de CT respecto a los valores basales se detectó una diferencia estadísticamente significativa a favor de los voluntarios que habían tomado estatinas ($P=0.008$). La reducción en sus niveles de CT después de haber tomado dos dosis de 40 mg de una de las tres estatinas (PRA, SIM o LOV) fue 6.8 (IC95%: 1.8-11.9) mg/dl mayor que los que habían recibido dos dosis de loperamida o mirtazapina. En el grupo de los voluntarios con estatinas sus niveles basales de CT se redujeron casi en el 75% de los casos (en el 50% de los casos la reducción fue mayor de 10 mg/dl) mientras que este porcentaje fue sólo del 50% en el grupo que recibió loperamida o mirtazapina (**Figura 4.17**). No se detectaron diferencias significativas entre ambos grupos en la reducción de los TG respecto a los niveles basales. Tampoco hubo diferencias en el tiempo transcurrido desde la administración de la segunda dosis de fármaco y el momento de la determinación de CT y TG utilizada para evaluar su cambio respecto a los niveles basales (**Tabla 4.18**). Los resultados obtenidos no cambiaron tras repetir los análisis utilizando sólo una determinación de CT y TG por voluntario (CFC-ESP *no repetidos*, n=207) (**Tabla 4.18**).

Sin embargo, los niveles basales de TG fueron casi 10.7 (IC95%: 1.6-19.8) mg/dl más altos en el grupo de voluntarios que habían participado en ensayos clínicos con fármacos sin efecto hipolipemiente.

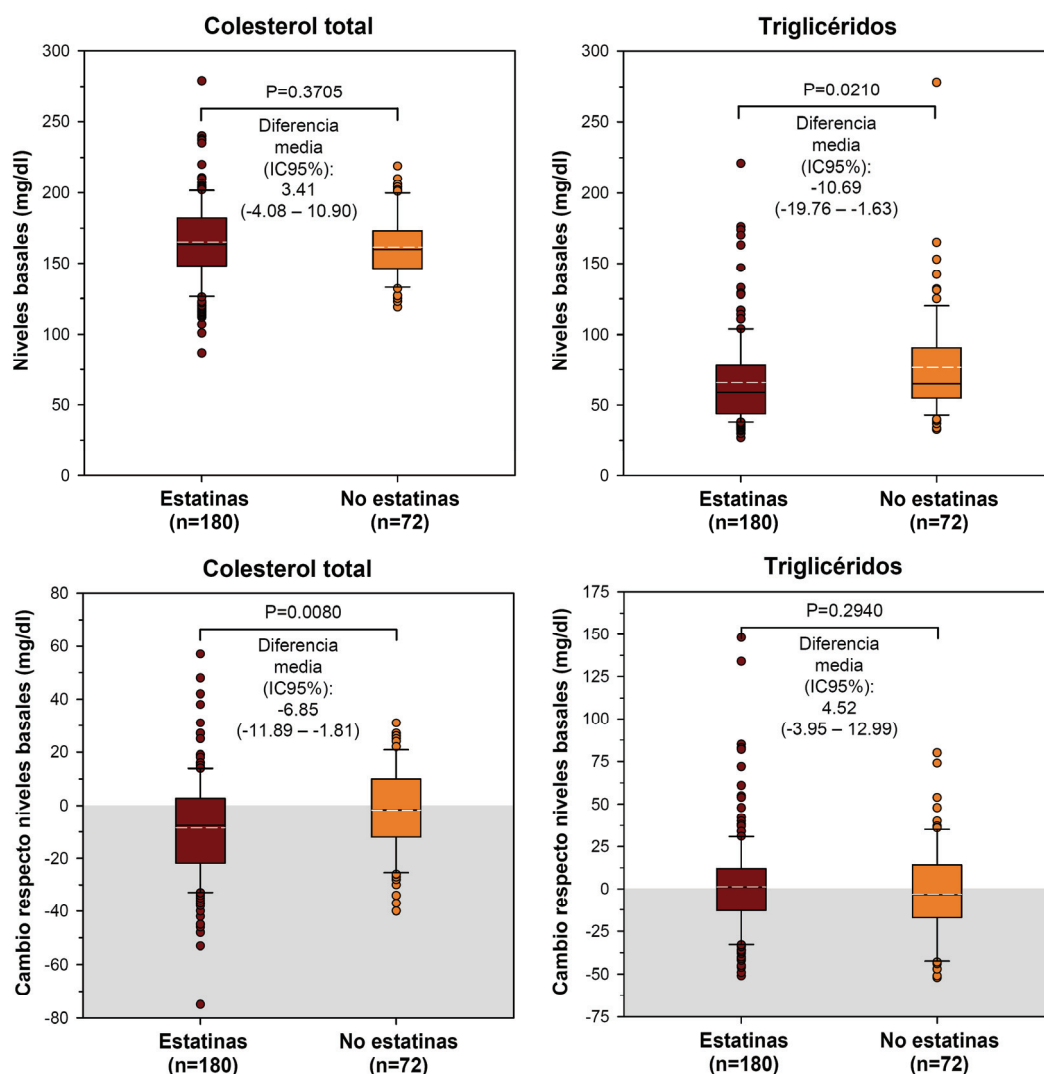


Figura 4.17. Diagramas de caja de los niveles basales y cambio en el colesterol total y los triglicéridos según el fármaco en la población de estudio (CFC-ESP repetidos, n=252).

(Se han incluido las determinaciones de los voluntarios que han participado en más de un ensayo clínico, por lo que el número de determinaciones (n=252) supera al de individuos (n=207); los valores *P* se han calculado con un *t de student* (bilateral); dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente.)

Tabla 4.18. Diferencias en los niveles basales y cambio en el colesterol total y los triglicéridos según el fármaco en la población de estudio (CFC-ESP).

Característica	Total Media (±DE)	Estatinas Media (±DE)	No estatinas Media (±DE)	Estatinas vs No estatinas ^a <i>p</i>	Media de las diferencias (IC95%)
CFC-ESP (repetidos)^b	n=252	n=180	n=72	<i>p</i>*	
CT basal (mg/dl)	163.99 (±27.26)	164.97 (±28.92)	161.56 (±22.57)	0.3705	3.41 (-4.08 – 10.90)
TG basales (mg/dl)	68.85 (±33.29)	65.79 (±31.01)	76.49 (±37.57)	0.0210	-10.69 (-19.76 – -1.63)
Tiempo post última dosis (días) ^d	7.35 (±1.78)	7.22 (±1.22)	7.67 (±2.69)	0.1762	-0.45 (-1.11 – 0.21)
Cambio CT (mg/dl)	-6.48 (±18.58)	-8.43 (±19.09)	-1.58 (±16.37)	0.0080	-6.85 (-11.89 – -1.81)
Cambio TG (mg/dl)	-0.08 (±30.85)	1.22 (±30.03)	-3.31 (±32.79)	0.2940	4.52 (-3.95 – 12.99)
CFC-ESP (no repetidos)^c	n=207	n=155	n=52	<i>p</i>*	
CT basal (mg/dl)	164.76 (±27.31)	165.28 (±28.78)	163.21 (±22.52)	0.6380	2.07 (-6.58 – 10.71)
TG basales (mg/dl)	69.21 (±34.47)	66.08 (±32.55)	78.56 (±38.46)	0.0235	-12.48 (-23.26 – -1.70)
Tiempo post última dosis (días) ^d	7.29 (±1.43)	7.19 (±1.29)	7.58 (±1.76)	0.0950	-0.38 (-0.83 – 0.07)
Cambio CT (mg/dl)	-7.64 (±17.85)	-9.06 (±18.11)	-3.38 (±16.47)	0.0468	-5.68 (-11.28 – -0.08)
Cambio TG (mg/dl)	-0.14 (±31.71)	1.05 (±29.85)	-3.69 (±36.78)	0.3524	5.08 (-5.28 – 14.76)

CT, colesterol total; DE, desviación estándar; IC95%, intervalo de confianza al 95%; TG, triglicéridos.

* *t* de student (bilateral)

^a Estatinas (lovastatina, simvastatina y pravastatina) y No estatinas (loperamida y mirtazapina);

^b Se han incluido en el análisis las determinaciones de los voluntarios que han participado en más de un ensayo clínico (el número de determinaciones supera al de individuos);

^c Se han incluido en el análisis sólo las determinaciones del primer ensayo clínico en el que han participado los voluntarios que han participado en varios (el número de individuos coincide con el número de determinaciones);

^d Se refiere al tiempo transcurrido desde la administración del fármaco en el segundo periodo del ensayo hasta el momento del análisis de seguridad que se utilizó para el cálculo del cambio producido respecto a los niveles basales (análisis de selección).

En la **Tabla 4.19** se muestran los resultados de la comparación de los niveles basales y cambio en CT y TG entre hombres y mujeres realizada en toda la población de estudio y en los voluntarios con o sin estatinas.

Los niveles basales de CT en las mujeres fueron 9.2 (IC95%: 2.5-15.9) mg/dl más altos que en los hombres de la población de estudio (CFC-ESP *repetidos*, n=252). En cambio, los niveles basales de TG fueron 21.1 (IC95%: 13.3-28.9) mg/dl más altos en éstos últimos.

Tabla 4.19. Diferencias en los niveles basales y cambio en el colesterol total y los triglicéridos según el sexo en la población de estudio (CFC-ESP).

Característica	Total Media (±DE)	Hombres Media (±DE)	Mujeres Media (±DE)	Hombres vs Mujeres <i>P</i>	Media de las diferencias (IC95%)
CFC-ESP (repetidos)^a	n=252	n=127	n=125	<i>P</i>*	
CT basal (mg/dl)	163.99 (±27.26)	159.42 (±26.41)	168.64 (±27.42)	0.0070	-9.22 (-15.90 – -2.54)
TG basales (mg/dl)	68.85 (±33.29)	79.31 (±39.27)	58.22 (±21.24)	2.94E-07	21.08 (13.26 – 28.91)
Estatinas^c	n=180	N=90	N=90		
Tiempo post última dosis (días) ^d	7.22 (±1.22)	7.34 (±1.25)	7.09 (±1.19)	0.1607	0.26 (-0.10 – 0.61)
Cambio CT (mg/dl)	-8.43 (±19.09)	-5.89 (±18.02)	-10.98 (±19.89)	0.0737	5.09 (-0.49 – 10.67)
Cambio TG (mg/dl)	1.22 (±30.03)	-0.02 (±33.72)	2.46 (±25.94)	0.5814	-2.48 (-11.33 – 6.38)
No estatinas^c	n=72	N=36	N=36	<i>P</i>*	
Tiempo post última dosis (días) ^d	7.67 (±2.69)	7.70 (±2.09)	7.63 (±3.24)	0.9080	0.07 (-1.20 – 1.35)
Cambio CT (mg/dl)	-1.58 (±16.37)	-3.08 (±17.00)	0.00 (±15.77)	0.4286	-3.08 (-10.80 – 4.64)
Cambio TG (mg/dl)	-3.31 (±32.79)	-4.46 (±42.17)	-2.09 (±18.96)	0.7573	-2.37 (-17.71 – 12.96)
CFC-ESP (no repetidos)^b	n=207	n=106	n=101	<i>P</i>*	
CT basal (mg/dl)	164.76 (±27.31)	159.94 (±26.48)	169.81 (±27.38)	0.0090	-9.87 (-17.25 – -2.49)
TG basales (mg/dl)	69.21 (±34.47)	79.29 (±40.40)	58.63 (±22.63)	9.63E-06	20.66 (11.73 – 29.59)
Estatinas^c	n=155	n=79	n=76	<i>P</i>*	
Tiempo post última dosis (días) ^d	7.19 (±1.29)	7.35 (±1.32)	7.03 (±1.25)	0.1151	0.33 (-0.08 – 0.74)
Cambio CT (mg/dl)	-9.06 (±18.11)	-6.99 (±17.90)	-11.22 (±18.20)	0.1461	4.24 (-1.49 – 9.97)
Cambio TG (mg/dl)	1.05 (±29.85)	-1.00 (±33.14)	3.17 (±26.05)	0.3862	-4.17 (-13.65 – 5.31)
No estatinas^c	n=52	n=27	n=25	<i>P</i>**	
Tiempo post última dosis (días) ^d	7.58 (±1.76)	8.11 (±2.29)	7.00 (±0.50)	0.0798	1.11
Cambio CT (mg/dl)	-3.38 (±16.47)	-5.07 (±17.13)	-1.56 (±15.86)	0.4637	-3.51
Cambio TG (mg/dl)	-3.69 (±36.78)	-2.48 (±48.04)	-5.00 (±19.24)	0.6735	2.52

CT, colesterol total; DE, desviación estándar; IC95%, intervalo de confianza al 95%; TG, triglicéridos.

* *t* de student (bilateral)** *U* de Mann-Whitney (bilateral)^a Se han incluido en el análisis las determinaciones de los voluntarios que han participado en más de un ensayo clínico (el número de determinaciones supera al de individuos);^b Se han incluido en el análisis sólo las determinaciones del primer ensayo clínico en el que han participado los voluntarios que han participado en varios (el número de individuos coincide con el número de determinaciones);^c Estatinas (lovastatina, simvastatina y pravastatina) y No estatinas (loperamida y mirtazapina);^d Se refiere al tiempo transcurrido desde la administración del fármaco en el segundo periodo del ensayo hasta el momento del análisis de seguridad que se utilizó para el cálculo del cambio producido respecto a los niveles basales (análisis de selección).

Tabla 4.20. Diferencias en los niveles basales y cambio en el colesterol total y los triglicéridos según el sexo en los tres estudios con estatinas.

Característica	Total Media (±DE)	Hombres Media (±DE)	Mujeres Media (±DE)	Hombres vs Mujeres <i>P</i> Media de las diferencias (IC95%)
3-LOVs	n=100	n=51	n=49	<i>P</i>*
CT basal (mg/dl)	162.70 (±27.61)	156.24 (±24.12)	169.43 (±29.59)	0.0161 -13.19 (-23.89 – -2.50)
TG basales (mg/dl)	66.19 (±28.94)	77.51 (±33.62)	54.41 (±16.49)	3.76E-05 23.10 (12.61 – 33.59)
Tiempo post última dosis (días) ^a	7.25 (±1.45)	7.43 (±1.43)	7.06 (±1.45)	0.2020 0.37 (-0.20 – 0.94)
Cambio CT (mg/dl)	-6.59 (±15.76)	-4.53 (±16.05)	-8.73 (±15.33)	0.1837 4.21 (-2.03 – 10.44)
Cambio TG (mg/dl)	3.25 (±26.42)	3.45 (±32.37)	3.04 (±18.65)	0.9380 0.41 (-10.05 – 10.87)
84-SIM	n=36	n=18	n=18	<i>P</i>**
CT basal (mg/dl)	175.89 (±32.63)	171.78 (±31.61)	180.00 (±34.02)	0.2027 -8.22
TG basales (mg/dl)	68.11 (±39.26)	81.11 (±47.72)	55.11 (±23.20)	0.0205 26.00
Tiempo post última dosis (días) ^a	7.22 (±1.12)	7.33 (±1.33)	7.11 (±0.90)	0.6058 0.22
Cambio CT (mg/dl)	-17.56 (±18.54)	-15.39 (±14.54)	-19.72 (±22.05)	0.2516 4.33
Cambio TG (mg/dl)	-4.28 (±29.51)	-8.28 (±37.26)	-0.28 (±19.26)	0.2516 -8.00
91-PRA	n=36	n=18	n=18	<i>P</i>**
CT basal (mg/dl)	163.33 (±25.79)	154.72 (±26.29)	171.94 (±22.83)	0.0549 -17.22
TG basales (mg/dl)	65.56 (±30.43)	71.67 (±38.18)	59.44 (±19.22)	0.6279 12.22
Tiempo post última dosis (días) ^a	6.97 (±0.45)	7.06 (±0.42)	6.89 (±0.47)	0.5841 0.17
Cambio CT (mg/dl)	-7.58 (±24.94)	-1.17 (±24.36)	-14.00 (±24.49)	0.2516 12.83
Cambio TG (mg/dl)	0.86 (±40.97)	-2.28 (±36.59)	4.00 (±45.79)	0.7905 -6.28

CT, colesterol total; DE, desviación estándar; IC95%, intervalo de confianza al 95%; TG, triglicéridos.

* *t* de Student (bilateral)** *U* de Mann-Whitney (bilateral)^a Se refiere al tiempo transcurrido desde la administración del fármaco en el segundo periodo del ensayo hasta el momento del análisis de seguridad que se utilizó para el cálculo del cambio producido respecto a los niveles basales (análisis de selección).

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en el cambio en CT y TG respecto a los niveles basales ni en el tiempo post última dosis en los voluntarios con o sin estatinas. Los resultados no se modificaron tras realizar la comparación entre ambos sexos utilizando sólo una determinación de CT y TG por voluntario (CFC-ESP *no repetidos*, n=207).

En la **Tabla 4.20** se muestran los resultados de la comparación de los niveles basales y cambio en CT y TG entre hombres y mujeres realizada en los voluntarios con lovastatina, simvastatina y pravastatina (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA).

Al igual que en la población total de estudio (CFC-ESP) los niveles basales de CT fueron más altos en las mujeres y los de TG basales más altos en los hombres. Sin embargo, estas diferencias alcanzaron significación estadística sólo en el caso de la lovastatina (3-LOVs): los niveles basales de CT fueron 13.2 (IC95%: 2.5-15.9) mg/dl y los TG 23.1 (IC95%: 12.6-33.6) mg/dl más altos en las mujeres y en los hombres, respectivamente. En cambio, la diferencia a favor de los hombres en los niveles basales de TG fue significativa sólo con la simvastatina (84-SIM). En el ensayo de bioequivalencia con pravastatina (91-PRA) la tendencia se mantuvo pero se perdió la significación estadística de estas diferencias tanto en los niveles basales de CT como de TG. En ninguna de las tres estatinas se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos sexos en el cambio de CT y TG respecto a los niveles basales, ni en el tiempo transcurrido desde la administración de la última dosis de estatina hasta el momento del análisis de seguridad utilizado para el cómputo del cambio producido respecto a los niveles basales.

En la **Figura 4.18** se representa la relación lineal entre los niveles basales y el cambio de CT observado con las tres estatinas. Se puede observar que cuanto más elevados son los niveles basales mayor es la reducción que se consigue con las distintas estatinas. Los niveles basales de CT a partir de los cuales se conseguía una reducción en los ensayos 91-PRA, 3-LOVs y 84-SIM fueron 145, 140 y 120 mg/dl, respectivamente. La reducción media en los niveles de CT fue muy parecida con pravastatina y lovastatina (7.6 y 6.6 mg/dl, respectivamente) mientras que con la misma dosis de 40 mg de simvastatina fue de 17.6 mg/dl. Esta diferencia puede considerarse como reflejo de su mayor potencia hipolipemiente, aunque al menos en parte puede ser explicada por los niveles basales de CT más altos que con las otras dos estatinas (**Tabla 4.20**).

En nuestra población de voluntarios sanos que participaron en ensayos clínicos, la administración de estatinas se asoció a un descenso en los niveles de colesterol total y a una ausencia de modificación en los niveles de TG. Por este motivo decidimos utilizar en los modelos de RLM sólo el cambio en el CT respecto a los niveles basales (Δ CT) como variable farmacodinámica dependiente. La selección del mejor modelo predictivo de Δ CT se realizó para cada una de las tres estatinas (pravastatina, simvastatina y lovastatina) en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado.

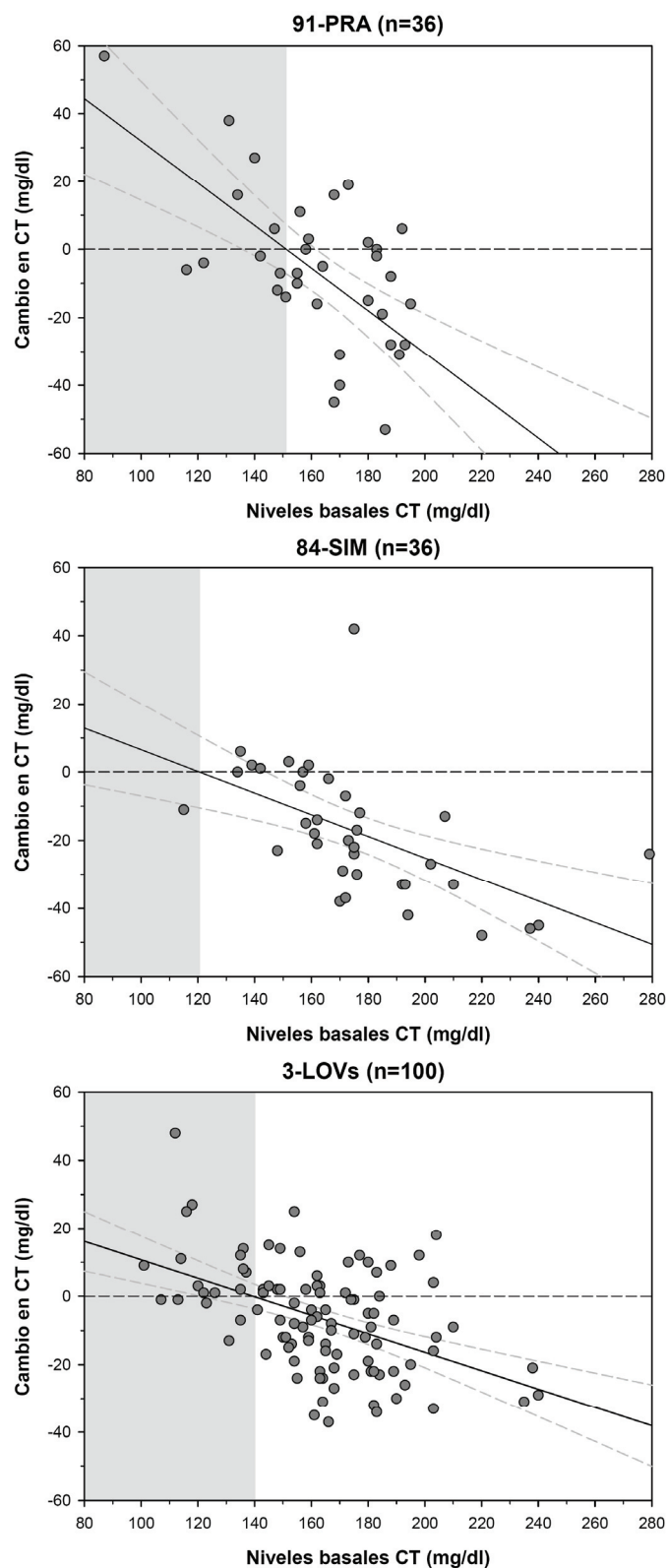


Figura 4.18. Relación lineal entre el cambio en el colesterol total (CT) y sus niveles basales para cada una de las estatinas (91-PRA, 84-SIM y 3-LOVs, $R^2 = 0.417$, 0.312 , 0.226 , respectivamente).

Las líneas grises discontinuas representan el intervalo de confianza al 95% de la recta de regresión y el rectángulo gris, los niveles basales para los cuales no hay reducción en CT.

4.4.2.1.- Pravastatina

Las variables independientes de entre las cuales se seleccionó el mejor modelo predictivo de RLM farmacodinámico (Δ CT) en el caso de la pravastatina (91-PRA) fueron el sexo, los 15 SNPs genotipados, el AUC_{t-dp-t} , el Cl/F_t , el tiempo post administración en el 2º periodo del ensayo y los niveles basales de colesterol ($n=20$). Al igual que en el caso de las variables farmacocinéticas, la selección de los mejores modelos predictivos se realizó en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado.

En la **Tabla 4.21** se describen los mejores modelos farmacodinámicos predictivos seleccionados en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado del ensayo 91-PRA. En los 36 voluntarios del ensayo el mejor modelo predictivo contenía dos covariables independientes, los niveles basales de CT y el SNP15, y explicaba el 45.7% de la variabilidad del Δ CT. Los niveles basales de CT explicaban el 41.7% de esta variabilidad mientras que el SNP15 del gen *CES2* sólo el 7.2%. Por cada unidad (mg/dl) de incremento en los niveles basales el CT descendía 0.63 (IC95%: 0.38-0.88) mg/dl. En cambio, por cada alelo mutado del SNP15 el descenso de CT fue 10.5 (IC95%: 0.29-20.7) mg/dl menor.

En los hombres el mejor modelo predictivo contenía dos covariables independientes, los niveles basales de CT y el SNP12, y explicaba el 49% de la variabilidad del Δ CT. Los niveles basales de CT explicaban el 38.8% de esta variabilidad mientras que el SNP12 del gen *SLCO1B1* el 17%. Por cada unidad (mg/dl) de incremento en los niveles basales el CT descendía 0.62 (IC95%: 0.25-0.99) mg/dl. En cambio, por cada alelo mutado del SNP12 el descenso de CT fue 16.8 (IC95%: 0.58-33.1) mg/dl menor.

En cambio, en las mujeres el mejor modelo predictivo contenía como covariable independiente sólo a los niveles basales de CT y explicaba el 33% de la variabilidad del Δ CT, 16% menos que en los hombres. Por cada unidad (mg/dl) de incremento en los niveles basales el CT descendía 0.65 (IC95%: 0.20-1.10) mg/dl.

Ninguna de las variables farmacocinéticas que reflejan la exposición a la pravastatina (AUC_t total ajustado por *mg* por *kg* de peso corporal de pravastatina administrada y el aclaramiento aparente total por *kg* de peso corporal, Cl/F_t) durante el ensayo clínico de bioequivalencia explicaron una parte significativa de la variabilidad en la respuesta hipolipemiente (Δ CT).

Tabla 4.21. Modelo de RLM para el cambio en los niveles de colesterol total en el estudio 91-PRA.							
Modelo*/Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR ²	P ^b	R ² P ^c
Todos (n=36)							
Modelo							0.4569 2.95E-05
(Constante)	91.659	(49.752 – 133.566)	-	1.00E-04	-	-	
Niveles basales CT (mg/dl)	-0.631	(-0.884 – -0.378)	-0.652	1.69E-05	0.4174	3.68E-05	
SNP15	10.500	(0.291 – 20.708)	0.269	0.0442	0.0724	0.0442	
Hombres (n=18)							
Modelo							0.4901 0.0050
(Constante)	79.937	(21.533 – 138.341)	-	0.0111	-	-	
Niveles basales CT (mg/dl)	-0.620	(-0.992 – -0.249)	-0.669	0.0032	0.3879	0.0100	
SNP12	16.849	(0.582 – 33.116)	0.415	0.0434	0.1702	0.0434	
Mujeres (n=18)							
Modelo							0.3294 0.0075
(Constante)	98.024	(19.724 – 176.323)	-	0.0173	-	-	
Niveles basales CT (mg/dl)	-0.652	(-1.103 – -0.200)	-0.607	0.0075	0.3689	0.0075	

B, coeficientes de regresión no estandarizados o parámetros de la ecuación de regresión del modelo, no son comparables entre sí ya que poseen diferentes unidades de medida; **beta**, coeficientes de regresión estandarizados, comparables entre sí al carecer de unidades de medida; **CT**, colesterol total; **dp**, variable ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; **IC95%**, intervalo de confianza del 95% de B que indica, con una confianza del 95%, el intervalo de cambio producido en la variable dependiente por cada unidad de cambio en la variable independiente; **R²**, coeficiente de determinación que representa la proporción de la variación total en la variable dependiente explicada por el modelo de regresión; **R²**, **R²** corregido para evitar su incremento ficticio procedente del número de variables independientes incluidas en el modelo y poder así comparar los R² de modelos con distinto número de variables independientes; **ΔR²**, cambio en R², indica el cambio que se produce en R² al añadir al modelo una de las variables independientes, su magnitud es un indicador de su capacidad predictiva de la variable dependiente y refleja la parte de la variabilidad explicada ajustada por el resto de variables independientes; **t**, variable total, suma de ambos periodos del estudio

* La selección del mejor modelo se ha realizado mediante el método de los pasos sucesivos partiendo de 20 variables independientes (sexo, SNP1-SNP15, AUC_dp_t, C/F_t, tiempo postadministración en el 2º periodo y niveles basales de colesterol total);

^a valor P del test de significación del coeficiente de regresión no estandarizado, indica que la contribución al modelo de la variable independiente es estadísticamente significativa o no;

^b valor P del test de significación del cambio en R², indica que el cambio es estadísticamente significativo o no;

^c valor P del test de significación global del modelo, indica que la parte de la variabilidad de la variable dependiente explicada por la ecuación de regresión estimada es estadísticamente significativa o no;

4.4.2.2.- Simvastatina

Las variables independientes de entre las cuales se seleccionó el mejor modelo predictivo de RLM farmacodinámico (Δ CT) en el caso de la simvastatina (84-SIM) fueron el sexo, los 15 SNPs genotipados, el $AUC_{t_{dp_t}}$, el Cl/F_t , el $OHAc-AUC_{t_{dp_t}}$, el MR_t , el tiempo post administración en el 2º periodo del ensayo y los niveles basales de colesterol (n=22). Al igual que en el caso de las variables farmacocinéticas, la selección de los mejores modelos predictivos se realizó en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado.

En la **Tabla 4.22** se describen los mejores modelos farmacodinámicos predictivos seleccionados en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado del ensayo 84-SIM. En los 36 voluntarios del ensayo el mejor modelo predictivo contenía tres covariables independientes, los niveles basales de CT, el $AUC_{t_{dp_t}}$ del hidroxiácido (OHAc) y el cociente metabólico (MR_t), y explicaba el 52.1% de la variabilidad del Δ CT. Los niveles basales de CT explicaban el 31.2% de esta variabilidad mientras que el $OHAc-AUC_{t_{dp_t}}$ y el MR_t sólo el 18.9% y 6.2%, respectivamente. Por cada unidad (mg/dl) de incremento en los niveles basales el CT descendía 0.35 (IC95%: 0.21-0.49) mg/dl. En cambio, por cada unidad (ng·h/ml/mg/kg) de incremento en el $OHAc-AUC_{t_{dp_t}}$ el descenso de CT fue 0.145 (IC95%: 0.07-0.22) mg/dl menor. En el caso del MR_t , por cada unidad arbitraria de incremento el descenso de CT fue 11.2 (IC95%: 0.3-22) mg/dl mayor.

En los hombres no se detectó ningún modelo predictivo que pudiera explicar una parte estadísticamente significativa de la variabilidad del Δ CT.

En cambio, en las mujeres el mejor modelo predictivo contenía tres covariables independientes, los niveles basales de CT, el $AUC_{t_{dp_t}}$ del hidroxiácido (OHAc) y el SNP11, y explicaba el 83% de la variabilidad del Δ CT. Los niveles basales de CT explicaban el 43% de esta variabilidad mientras que el $OHAc-AUC_{t_{dp_t}}$ y el SNP11 el 36% y 6.8%, respectivamente. Por cada unidad (mg/dl) de incremento en los niveles basales el CT descendía 0.46 (IC95%: 0.31-0.61) mg/dl. En cambio, por cada unidad (ng·h/ml/mg/kg) de incremento en el $OHAc-AUC_{t_{dp_t}}$ el descenso de CT fue 0.12 (IC95%: 0.07-0.16) mg/dl menor. En el caso del SNP11 del gen *GNB3*, por cada alelo mutado el descenso de CT fue 8.5 (IC95%: 1.2-15.7) mg/dl mayor.

Tabla 4.22. Modelo de RLM para el cambio en los niveles de colesterol total en el estudio 84-SIM.							
Modelo* /Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR ²	P ^b	R ² P ^c
Todos (n=36)							
Modelo							0.5212 9.20E-06
(Constante)	40.241	(15.564 – 64.917)	-	0.0023	-	-	
Niveles basales CT (mg/dl)	-0.353	(-0.492 – -0.213)	-0.621	1.37E-05	0.3121	4.87E-04	
OHAc-AUC_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)	0.145	(0.073 – 0.216)	0.664	0.0002	0.1891	0.0015	
MR_t	-11.189	(-22.039 – -0.340)	-0.336	0.0436	0.0623	0.0436	
Hombres (n=18)							
Modelo							ninguno
Mujeres (n=18)							
Modelo							0.8294 7.54E-06
(Constante)	56.916	(30.407 – 83.425)	-	4.64E-04	-	-	
Niveles basales CT (mg/dl)	-0.459	(-0.607 – -0.312)	-0.709	1.43E-05	0.4301	0.0043	
OHAc-AUC_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)	0.116	(0.071 – 0.161)	0.586	8.73E-05	0.3631	2.10E-04	
SNP11	-8.492	(-15.750 – -1.234)	-0.264	0.0252	0.0681	0.0252	

B, coeficientes de regresión no estandarizados o parámetros de la ecuación de regresión del modelo, no son comparables entre sí ya que poseen diferentes unidades de medida; **beta**, coeficientes de regresión estandarizados, comparables entre sí al carecer de unidades de medida; **CT**, colesterol total; **dp**, variable ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; **IC95%**, intervalo de confianza del 95% de B que indica, con una confianza del 95%, el intervalo de cambio producido en la variable dependiente por cada unidad de cambio en la variable independiente; **R²**, coeficiente de determinación que representa la proporción de la variación total en la variable dependiente explicada por el modelo de regresión; **R²**, R² corregido para evitar su incremento ficticio procedente del número de variables independientes incluidas en el modelo y poder así comparar los R² de modelos con distinto número de variables independientes; **ΔR²**, cambio en R², indica el cambio que se produce en R² al añadir al modelo una de las variables independientes, su magnitud es un indicador de su capacidad predictiva de la variable dependiente y refleja la parte de la variabilidad explicada ajustada por el resto de variables independientes; **MR_t**, variable total, suma de ambos periodos del estudio

* La selección del mejor modelo se ha realizado mediante el método de los pasos sucesivos partiendo de 22 variables independientes (sexo, SNP1-SNP15, AUC_dp_t, C/F_t, OHAc-AUC_dp_t, MR_t, tiempo postadministración en el 2º periodo y niveles basales de colesterol total);

^a valor P del test de significación del coeficiente de regresión no estandarizado, indica que la contribución al modelo de la variable independiente es estadísticamente significativa o no;

^b valor P del test de significación del cambio en R², indica que el cambio es estadísticamente significativo o no;

^c valor P del test de significación global del modelo, indica que la parte de la variabilidad de la variable dependiente explicada por la ecuación de regresión estimada es estadísticamente significativa o no;

4.4.2.3.- Lovastatina

Las variables independientes de entre las cuales se seleccionó el mejor modelo predictivo de RLM farmacodinámico (Δ CT) en el caso de la lovastatina (3-LOVs) fueron el sexo, los 15 SNPs genotipados, el AUC_tdp_t, el Cl/F_t, el OHAc-AUC_tdp_t, el MR_t, el tiempo post administración en el 2º periodo del ensayo, los niveles basales de colesterol y el ensayo (73-LOV, 78-LOV o 92-LOV) (n=23). Al igual que en el caso de las variables farmacocinéticas, la selección de los mejores modelos predictivos se realizó en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado.

En la **Tabla 4.23** se describen los mejores modelos farmacodinámicos predictivos seleccionados en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado. En los 100 voluntarios que participaron en ensayos de bioequivalencia con lovastatina el mejor modelo predictivo contenía cuatro covariables independientes, los niveles basales de CT, el SNP6 del gen *NR1I2*, el SNP11 del gen *GNB3* y el AUC_tdp_t del hidroxiaácido (OHAc), y explicaba el 35.7% de la variabilidad del Δ CT. Los niveles basales de CT explicaban la mayor parte (22.6%) de esta variabilidad mientras que el SNP6, el SNP11 y el OHAc-AUC_tdp_t sólo 6.4%, 5.5% y 3.9%, respectivamente. Por cada unidad (mg/dl) de incremento en los niveles basales el CT descendía 0.32 (IC95%: 0.22-0.41) mg/dl. En cambio, por cada unidad (ng·h/ml/mg/kg) de incremento en el OHAc-AUC_tdp_t el descenso de CT fue 0.02 (IC95%: 0.003-0.036) mg/dl menor. Por cada alelo mutado del SNP6 el descenso de CT fue 6.9 (IC95%: 1.8-12.1) mg/dl menor. En el caso del SNP11, a diferencia de lo que ocurría en el modelo predictivo de las mujeres del ensayo 84-SIM donde se asociaba a una respuesta hipolipemiente mejor, por cada alelo mutado el descenso de CT fue 5.6 (IC95%: 1.8-9.4) mg/dl menor.

En los hombres (n=51) el mejor modelo predictivo contenía dos covariables independientes, los niveles basales de CT y el SNP11, y explicaba el 38.3% de la variabilidad del Δ CT. Los niveles basales de CT explicaban el 25.8% de esta variabilidad mientras que el SNP11 del gen *GNB3* el 15.2%. Por cada unidad (mg/dl) de incremento en los niveles basales el CT descendía 0.39 (IC95%: 0.23-0.54) mg/dl. En cambio, por cada alelo mutado del SNP11 el descenso de CT fue 9.9 (IC95%: 0.58-33.1) mg/dl menor.

Tabla 4.23. Modelo de RLM para el cambio en los niveles de colesterol total en el estudio 3-LOVs.							
Modelo ^a /Covariables	B	IC95%	beta	P ^a	ΔR ²	P ^b	R ² _c P ^c
Todos (n=100)							
Modelo							0.3574 5.90E-09
(Constante)	35.162	(19.516 – 50.809)	-	2.32E-05	-	-	
Niveles basales CT (mg/dl)	-0.316	(-0.412 – -0.220)	-0.555	3.76E-09	0.2261	1.12E-06	
SNP6	6.957	(1.764 – 12.150)	0.225	0.0092	0.0645	0.0048	
SNP11	5.577	(1.781 – 9.373)	0.247	0.0044	0.0550	0.0069	
OHAc-AUCt_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)	0.020	(0.003 – 0.036)	0.203	0.0188	0.0392	0.0188	
Hombres (n=51)							
Modelo							0.3828 9.20E-06
(Constante)	50.128	(25.550 – 74.706)	-	0.0002	-	-	
Niveles basales CT (mg/dl)	-0.386	(-0.544 – -0.228)	-0.580	1.24E-05	0.2576	0.0003	
SNP11	9.939	(3.989 – 15.889)	0.397	0.0016	0.1521	0.0016	
Mujeres (n=49)							
Modelo							0.4750 2.34E-06
(Constante)	3.709	(-18.561 – 25.979)	-	0.7385	-	-	
SNP12	10.109	(5.572 – 14.645)	0.503	5.35E-05	0.2150	0.0010	
Niveles basales CT (mg/dl)	-0.203	(-0.315 – -0.090)	-0.390	0.0007	0.1672	0.0012	
AUCt_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)	0.068	(0.015 – 0.121)	0.277	0.0132	0.0762	0.0180	
SNP7	5.764	(0.784 – 10.744)	0.261	0.0243	0.0623	0.0243	

B, coeficientes de regresión no estandarizados o parámetros de la ecuación de regresión del modelo, no son comparables entre sí ya que poseen diferentes unidades de medida; **beta**, coeficientes de regresión estandarizados, comparables entre sí al carecer de unidades de medida; **CT**, colesterol total; **dp**, variable ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal; **IC95%**, intervalo de confianza del 95% de B que indica, con una confianza del 95%, el intervalo de cambio producido en la variable dependiente por cada unidad de cambio en la variable independiente; **R²**, coeficiente de determinación que representa la proporción de la variación total en la variable dependiente explicada por el modelo de regresión; **R²_c**, R² corregido para evitar su incremento ficticio procedente del número de variables independientes incluidas en el modelo y poder así comparar los R² de modelos con distinto número de variables independientes; **ΔR²**, cambio en R², indica el cambio que se produce en R² al añadir al modelo una de las variables independientes, su magnitud es un indicador de su capacidad predictiva de la variable dependiente y refleja la parte de la variabilidad explicada ajustada por el resto de variables independientes; **-t**, variable total, suma de ambos periodos del estudio

^a La selección del mejor modelo se ha realizado mediante el método de los pasos sucesivos partiendo de 23 variables independientes (ec, sexo, SNP1-SNP15, AUC_dp_t, Cl/F t, OHAc-AUC_dp_t, MR_t, tiempo postadministración en el 2º periodo y niveles basales de colesterol total);

^b valor P del test de significación del coeficiente de regresión no estandarizado, indica que la contribución al modelo de la variable independiente es estadísticamente significativa o no;

^c valor P del test de significación global del modelo, indica que la parte de la variabilidad de la variable dependiente explicada por la ecuación de regresión estimada es estadísticamente significativa o no;

En las mujeres, en cambio, el mejor modelo predictivo contenía cuatro covariables independientes, los niveles basales de CT, el AUC_{t_{dp}t} de la lactona, el SNP12 y el SNP7, y explicaba el 47.5% de la variabilidad del Δ CT. Los niveles basales de CT explicaban el 16.7% de esta variabilidad mientras que el AUC_{t_{dp}t}, el SNP12 y el SNP7 7.6%, 21.5% y 6.2%, respectivamente. Por cada unidad (mg/dl) de incremento en los niveles basales el CT descendía 0.20 (IC95%: 0.09-0.31) mg/dl. En cambio, por cada unidad (ng·h/ml/mg/kg) de incremento en el AUC_{t_{dp}t} de la lactona el descenso de CT fue 0.07 (IC95%: 0.01-0.12) mg/dl menor. En el caso del SNP12 del gen *SLCO1B1*, por cada alelo mutado el descenso de CT fue 10.1 (IC95%: 5.6-14.6) mg/dl menor. Igualmente, por cada alelo mutado del SNP7 del gen *ABCB1* el descenso de CT fue 5.8 (IC95%: 0.8-10.7) mg/dl menor.

4.5.- Análisis de la presencia de epístasis en los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos de lovastatina (3-LOVs)

Para la detección de la presencia de interacciones epistáticas entre los 15 polimorfismos analizados hemos utilizado el método de la reducción generalizada de la dimensionalidad multifactorial o GMDR ("*Generalized Multifactor Dimensionality Reduction*") aplicándolo sólo a los voluntarios con lovastatina (3-LOVs, n=100) ya que es un método que necesita un tamaño muestral considerable, además de la ausencia de individuos con genotipos indeterminados (valores perdidos). En la **Tabla 4.24** se presenta el porcentaje de individuos incluidos en el análisis y los excluidos por algún genotipo indeterminado en los 15 SNPs, tanto en hombres como en mujeres y la comparación entre ambos sexos. El porcentaje de excluidos en los hombres fue del 15.7% y en las mujeres del 6.1%, no obstante, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. El análisis de la presencia de epístasis se realizó en varias variables farmacocinéticas y en el Δ CT como variable farmacodinámica.

Tabla 4.24. Comparación del porcentaje de excluidos por genotipo indeterminado en algún SNP entre ambos sexos de la población 3-LOVs (n=100) utilizada para la detección de epístasis.						
Detección de epístasis	Hombres (n=51)		Mujeres (n=49)		Diferencia media % (IC95%)	p*
	n	% (IC95%)	n	% (IC95%)		
Incluidos	43	84.31 (70.86 – 92.51)	46	93.88 (82.13 – 98.41)	-	-
Excluidos	8	15.69 (7.49 – 29.14)	3	6.12 (1.59 – 17.87)	9.56 (-4.63 – 23.89)	ns

* χ^2 (bilateral); ns: no significativo

4.5.1.- Variables farmacocinéticas

Las seis variables farmacocinéticas de lovastatina en las cuales se investigó la presencia de interacciones epistáticas fueron: la $C_{\max_dp_t}$, el $AUC_{t_dp_t}$ y el Cl/F_t de la lactona, y la $C_{\max_dp_t}$, el $AUC_{t_dp_t}$ y el MR_t del hidroxilácido. En el cálculo de los "scores" para cada una de ellas se utilizaron modelos lineales generalizados que incluían como covariables de ajuste el sexo y el ensayo clínico (al provenir los voluntarios de tres ensayos clínicos de bioequivalencia distintos).

En la **Tabla 4.25** se indica la precisión de predicción, la consistencia de la validación cruzada y el valor p del test del signo correspondiente al mejor modelo de cada una de las combinaciones de 2, 3,..., hasta 7 de los 15 SNPs. Ninguno de estos modelos epistáticos en las tres variables farmacocinéticas ($C_{\max_dp_t}$, $AUC_{t_dp_t}$ o Cl/F_t) de la lactona de lovastatina alcanzó la significación estadística. Si bien es cierto que el modelo epistático de 4 SNPs de la $C_{\max_dp_t}$ y el de 5 SNPs del Cl/F_t obtuvieron una significación marginal ($p=0.0547$). En cambio, en el caso de las tres variables farmacocinéticas del hidroxilácido (OHAc) de lovastatina en cada una de ellas se detectó al menos un modelo epistático estadísticamente significativo. El modelo epistático que alcanzó la significación estadística para la $C_{\max_dp_t}$ del OHAc fue el de 4 SNPs que incluía al SNP8 del gen *ABCB1*, al SNP9 del gen *PON3* y a los SNP12 y SNP13 del gen *SLCO1B1*. Su precisión de predicción fue del 73% y la consistencia de su validación cruzada del 50%.

En la **Figura 4.19** se representa en formato de tabla n -dimensional la interacción de los genotipos de estos cuatro polimorfismos. Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los 4 SNPs incluidos en el modelo epistático. Las casillas con un fondo de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de $C_{\max_dp_t}$ y las de color gris claro a niveles más bajos.

Para el $AUC_{t_dp_t}$ del OHAc de lovastatina se detectaron tres modelos epistáticos que fueron estadísticamente significativos; el de 2, 3 y 4 SNPs. El modelo epistático de 2 polimorfismos contenía el SNP12 y el SNP13, ambos del mismo gen, el *SLCO1B1*, y su precisión de predicción fue del 82% y la consistencia de su validación cruzada del 50% (**Tabla 4.25**).

Tabla 4.25. Modelos de epístasis para las variables farmacocinéticas de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89) identificados con el método GMDR.

Variable fenotípica / Combinaciones de <i>n</i> SNPs	Modelo (el mejor)*	Precisión de la predicción	Consistencia de la validación cruzada**	p***
Lactona				
C_{max}_dp_t (ng/ml/mg/kg)				
2	SNP11, SNP14	0.5579	5/10	0.3770
3	SNP3, SNP7, SNP11	0.3846	4/10	0.9453
4	SNP2, SNP8, SNP9, SNP11	0.6546	9/10	0.0547
5	SNP2, SNP4, SNP7, SNP9, SNP11	0.5686	5/10	0.6230
6	SNP2, SNP4, SNP7, SNP9, SNP11, SNP15	0.3581	4/10	0.9453
7	SNP2, SNP4, SNP7, SNP9, SNP11, SNP14, SNP15	0.5879	7/10	0.3770
AUC_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)				
2	SNP3, SNP9	0.5510	4/10	0.6230
3	SNP3, SNP7, SNP9	0.5521	6/10	0.3770
4	SNP1, SNP2, SNP7, SNP9	0.4533	2/10	0.6230
5	SNP3, SNP7, SNP9, SNP13, SNP14	0.4490	5/10	0.6230
6	SNP3, SNP4, SNP7, SNP9, SNP11, SNP13	0.3160	4/10	0.9453
7	SNP3, SNP4, SNP7, SNP9, SNP11, SNP13, SNP14	0.4797	6/10	0.1719
Cl/F_t (ml/min/kg)				
2	SNP6, SNP11	0.5049	5/10	0.6230
3	SNP8, SNP13, SNP14	0.4845	4/10	0.6230
4	SNP2, SNP5, SNP7, SNP9	0.5761	4/10	0.3770
5	SNP2, SNP4, SNP5, SNP11, SNP14	0.6139	5/10	0.0547
6	SNP2, SNP4, SNP5, SNP8, SNP11, SNP14	0.4887	3/10	0.1719
7	SNP2, SNP4, SNP5, SNP8, SNP9, SNP11, SNP14	0.3800	4/10	0.6230
Hidroxiácido				
C_{max}_dp_t (ng/ml/mg/kg)				
2	SNP9, SNP13	0.6393	4/10	0.1719
3	SNP8, SNP12, SNP13	0.7414	7/10	0.0547
4	SNP8, SNP9, SNP12, SNP13	0.7335	5/10	0.0010
5	SNP2, SNP8, SNP9, SNP13, SNP14	0.6010	2/10	0.0547
6	SNP2, SNP3, SNP7, SNP9, SNP13, SNP14	0.8809	6/10	0.0547
7	SNP1, SNP3, SNP5, SNP7, SNP9, SNP13, SNP14	0.6365	4/10	0.1719
AUC_dp_t (ng·h/ml/mg/kg)				
2	SNP12, SNP13	0.8234	5/10	0.0010
3	SNP8, SNP12, SNP13	0.8736	8/10	0.0010
4	SNP1, SNP8, SNP12, SNP13	0.7153	3/10	0.0107
5	SNP1, SNP7, SNP9, SNP13, SNP14	0.7386	7/10	0.0547
6	SNP1, SNP9, SNP12, SNP13, SNP14, SNP15	0.4992	2/10	0.3770
7	SNP2, SNP6, SNP8, SNP9, SNP12, SNP14, SNP15	0.4776	2/10	0.1719
MR_t				
2	SNP8, SNP13	0.7883	9/10	0.0107
3	SNP3, SNP12, SNP13	0.6928	8/10	0.0107
4	SNP3, SNP4, SNP12, SNP13	0.7361	8/10	0.1719
5	SNP2, SNP4, SNP12, SNP13, SNP14	0.3757	3/10	0.9453
6	SNP2, SNP4, SNP8, SNP11, SNP12, SNP13	0.6752	7/10	0.0547
7	SNP2, SNP4, SNP8, SNP11, SNP12, SNP13, SNP14	0.5068	9/10	0.0107

* El mejor modelo epistático (con *ensayo clínico* y *sexo* como covariables) seleccionado de entre todas las combinaciones de *n* (2-7) elementos de entre los 15 SNPs analizados.

** Número de veces que el modelo ha sido seleccionado como el mejor respecto al total de validaciones cruzadas.

*** Test (no paramétrico) del signo.

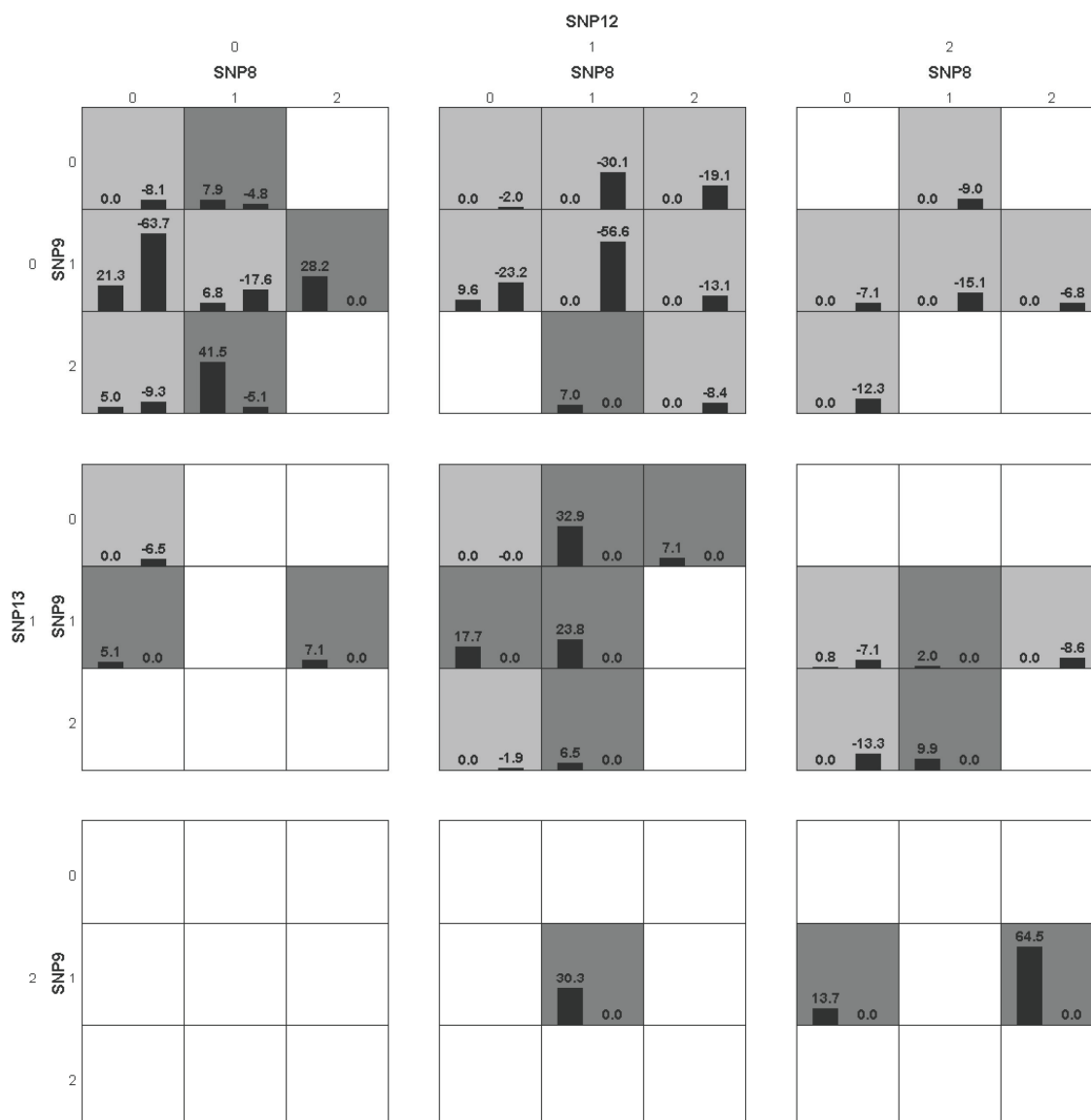


Figura 4.19. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis identificado (SNP8*SNP9*SNP12*SNP13) para la $C_{max_dp_t}$ del ácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs ($n=89$).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de $C_{max_dp_t}$ y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de las mismas.

En la **Figura 4.20** se representa en formato de tabla n -dimensional la interacción de los genotipos de estos dos polimorfismos. Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los dos SNPs incluidos en el modelo epistático. Las casillas con un fondo de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de AUC_{dp_t} del OHAc y las de color gris claro a niveles más bajos.

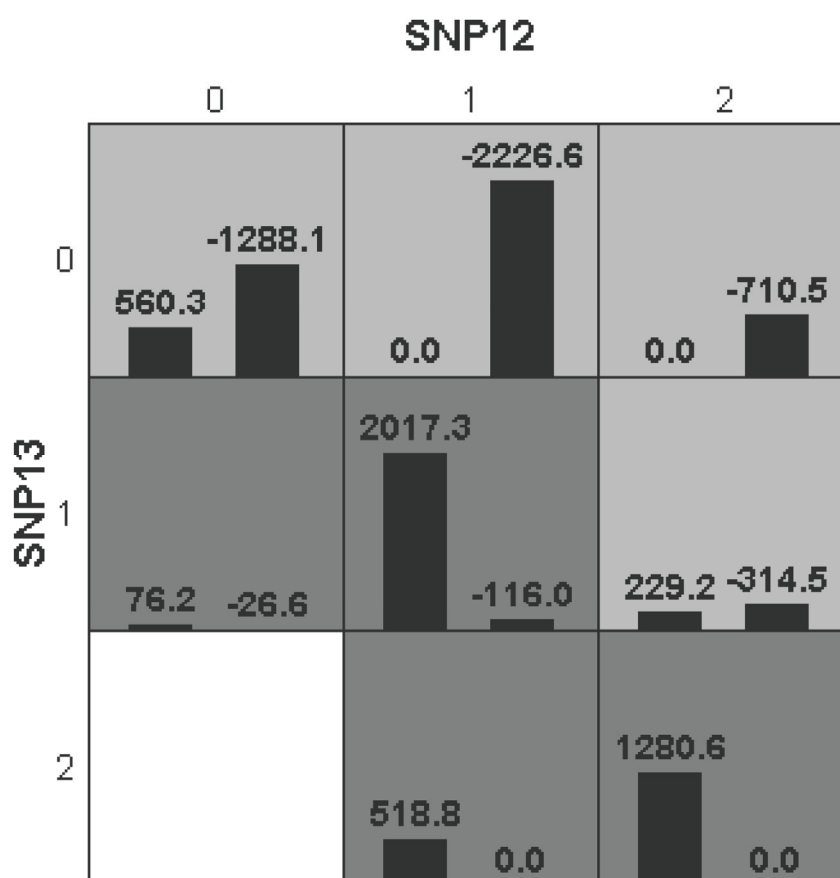


Figura 4.20. Representación gráfica del mejor modelo de epistasia de 2 SNPs identificado (SNP12*SNP13) para el AUC_{dp_t} del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs ($n=89$).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de AUC_{dp_t} y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de las mismas.

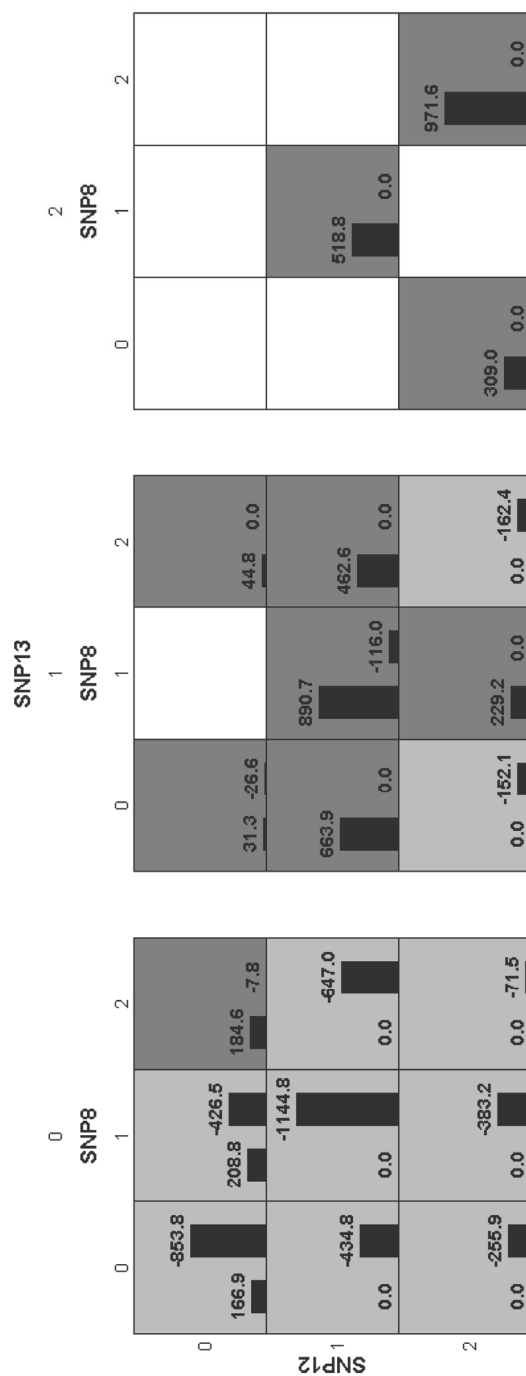


Figura 4.21. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 3 SNPs identificado (SNP8*SNP12*SNP13) para el AUC_{dp_t} del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs ($n=89$).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de AUC_{dp_t} y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de las mismas.

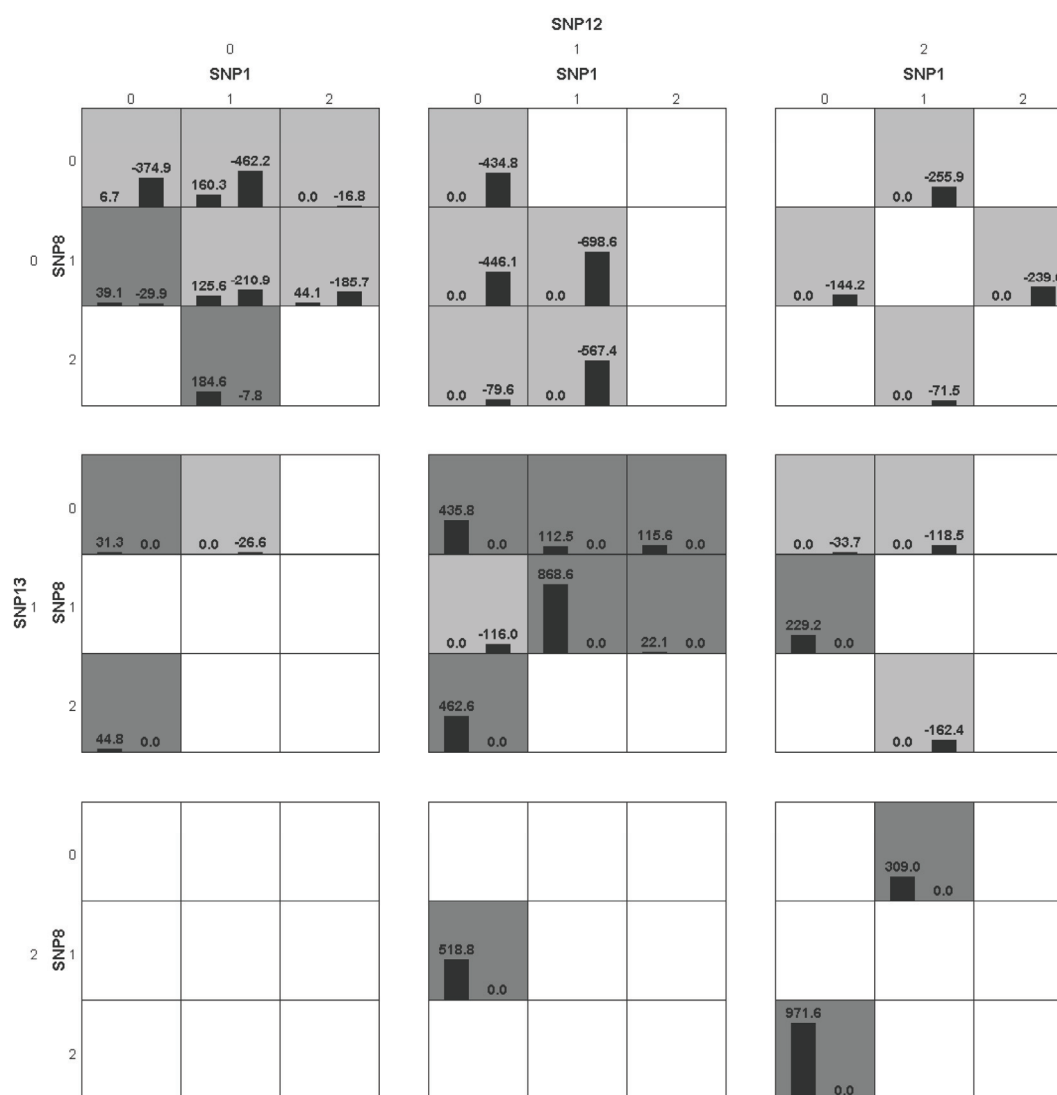


Figura 4.22. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 4 SNPs identificado (SNP1*SNP8*SNP12*SNP13) para el AUC_{dp_t} del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de AUC_{dp_t} y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de las mismas.

El modelo epistático de 3 polimorfismos del AUC_{dp_t} del OHAc contenía, además del SNP12 y el SNP13 presentes en el modelo anterior, al SNP8 del gen *ABCB1*. Su precisión de predicción fue del 87% y la consistencia de su validación cruzada del 80% (**Tabla 4.25**).

En la **Figura 4.21** se representa en formato de tabla n -dimensional la interacción de los genotipos de estos tres polimorfismos. Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los tres SNPs (SNP8, SNP12 y SNP13) incluidos en el modelo epistático. Las casillas con un fondo de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de AUC_tdp_t del OHAc y las de color gris claro a niveles más bajos.

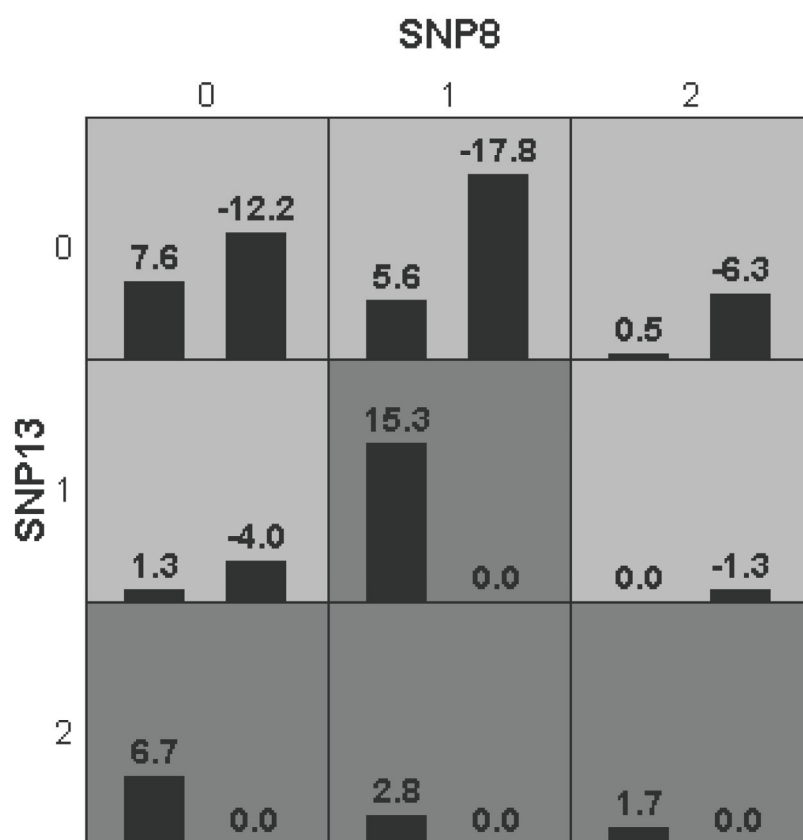


Figura 4.23. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 2 SNPs identificado (SNP8*SNP13) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de las mismas.

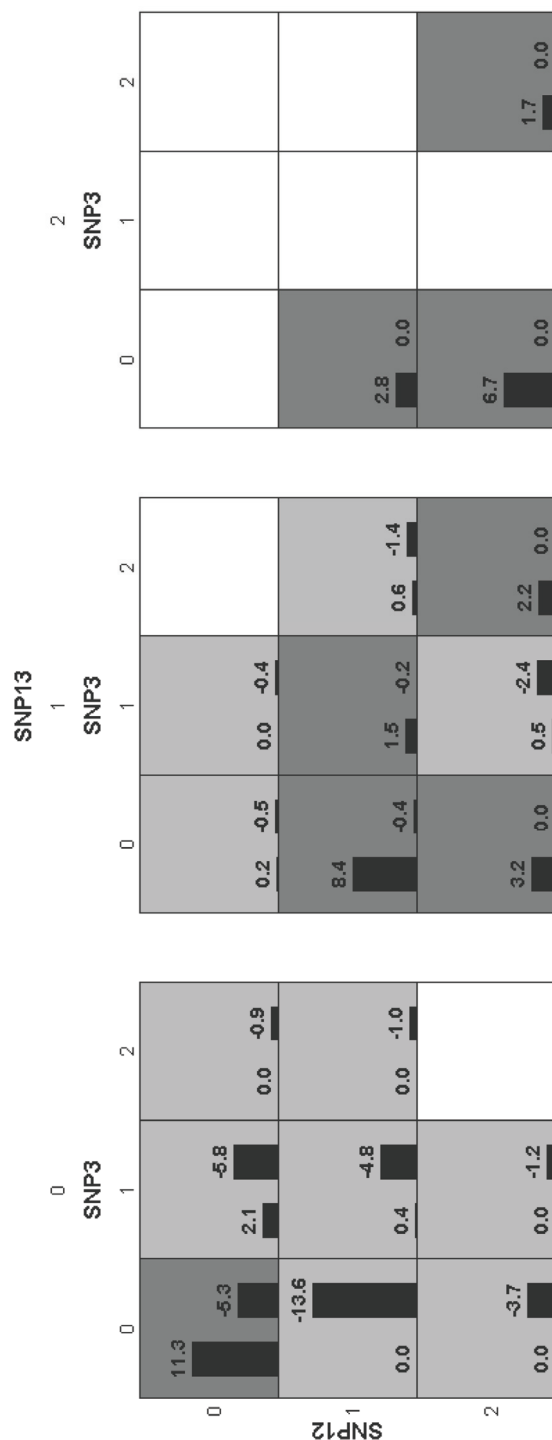


Figura 4.24. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 3 SNPs identificado (SNP3*SNP12*SNP13) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de las mismas.

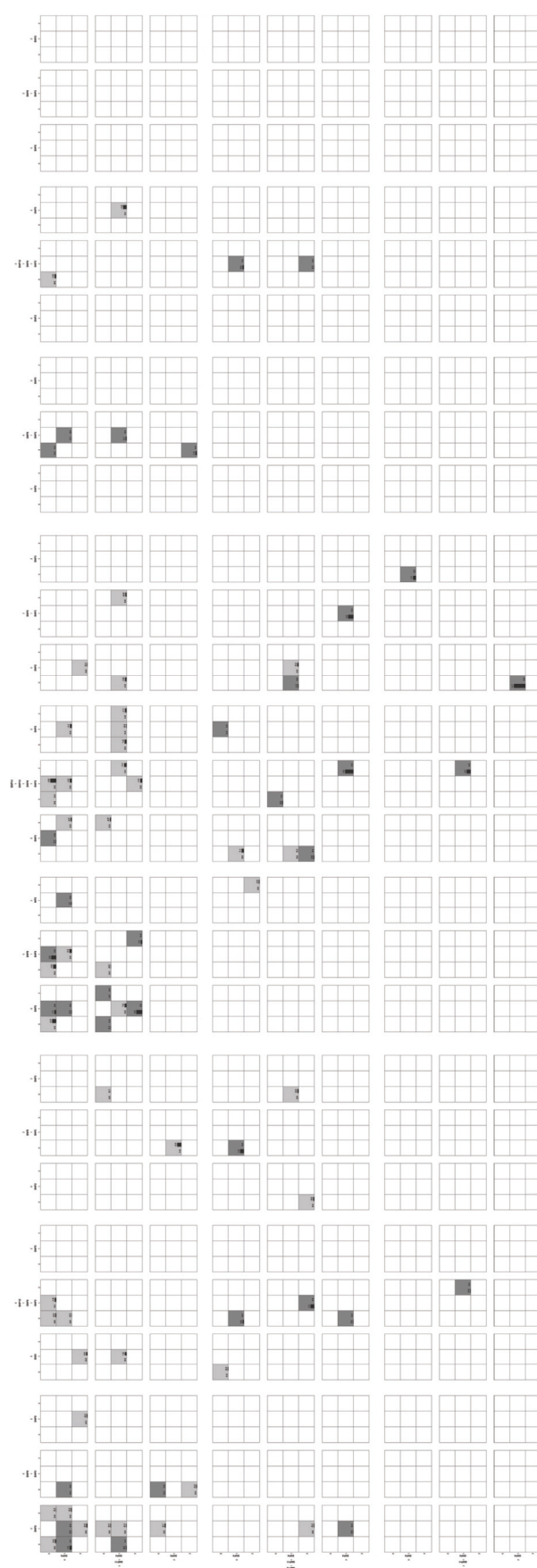


Figura 4.25

Figura 4.25. (en la pág. anterior) Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de las mismas. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes que se pueden ver en el **Anexo 2., Figuras A2.17 - A2.43** (pág. A51 – A77).

El modelo epistático de 4 polimorfismos del AUC_t_dp_t del OHAc contenía, además del SNP8, el SNP12 y el SNP13 presentes en el modelo anterior, al SNP1 del gen *NR1I3*. Su precisión de predicción fue del 71% y la consistencia de su validación cruzada sólo del 30% (**Tabla 4.25**). En la **Figura 4.22** se representa en formato de tabla *n*-dimensional la interacción de los genotipos de estos cuatro polimorfismos. Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los cuatro SNPs (SNP1, SNP8, SNP12 y SNP13) incluidos en el modelo epistático. Las casillas con un fondo de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de AUC_t_dp_t del OHAc y las de color gris claro a niveles más bajos.

Para el cociente metabólico (MR_t) de lovastatina, también, se detectaron tres modelos epistáticos que fueron estadísticamente significativos; el de 2, 3 y 7 SNPs. El modelo epistático de 2 polimorfismos contenía el SNP8 del gen *ABCB1* y el SNP13 del gen *SLCO1B1*. Su precisión de predicción fue del 79% y la consistencia de su validación cruzada del 90% (**Tabla 4.25**). En la **Figura 4.23** se representa en formato de tabla *n*-dimensional la interacción de los genotipos de estos dos polimorfismos. Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los dos SNPs (SNP8 y SNP13) incluidos en el modelo epistático. Las casillas con un fondo de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos.

El modelo epistático del MR_t de 3 polimorfismos contenía el SNP3 del gen *NR1I3* y el SNP12 y el SNP13, ambos del gen *SLCO1B1*. Su precisión de predicción fue del 69% y la consistencia de su validación cruzada del 80% (**Tabla 4.25**). En la **Figura 4.24** se representa en formato de tabla *n*-dimensional la interacción de los genotipos de estos tres polimorfismos. Cada casilla representa al fenotipo de los

individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los tres SNPs (SNP3, SNP12 y SNP13) incluidos en el modelo epistático. Las casillas con un fondo de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos.

Por último, el modelo epistático del MR_t de 7 polimorfismos contenía el SNP2 del gen *NR1I3*, el SNP4 del gen *NR1I2*, el SNP8 del gen *ABCB1*, el SNP11 del gen *GNB3*, el SNP12 y el SNP13, ambos del gen *SLCO1B1*, y el SNP14 del gen *CYP1A2*. Su precisión de predicción fue sólo del 51% pero la consistencia de su validación cruzada del 90% (**Tabla 4.25**). En la **Figura 4.25** se representa en formato de tabla *n*-dimensional la interacción de los genotipos de estos siete polimorfismos. Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los siete SNPs (SNP2, SNP4, SNP8, SNP11, SNP12, SNP13 y SNP14) incluidos en el modelo epistático. Las casillas con un fondo de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. La mayoría de las casillas son de color blanco y representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos fenotípicos al no existir individuos portadores de las mismas.

4.5.2.- Variables farmacodinámicas (eficacia hipolipemiante)

La única variable farmacodinámica de lovastatina en la cual se investigó la presencia de interacciones epistáticas fue el cambio de colesterol total respecto a la basal (Δ CT). En el cálculo de los "scores" para esta variable dependiente se utilizaron modelos lineales generalizados que incluían como covariables de ajuste el sexo y el ensayo clínico (al provenir los voluntarios de tres ensayos clínicos de bioequivalencia distintos), los niveles de colesterol total basal, el AUC_{t-dp-t} de la lactona y el AUC_{t-dp-t} del hidróxiácido de lovastatina.

En la **Tabla 4.26** se indica la precisión de predicción, la consistencia de la validación cruzada y el valor *p* del test del signo correspondiente al mejor modelo de cada una de las combinaciones de 2, 3, ..., hasta 7 de los 15 SNPs. El único modelo epistático que fue estadísticamente significativo (*p*=0.01) fue el de la interacción entre el SNP2 del gen *NR1I3* y el SNP4 del gen *NR1I2*. Su precisión de predicción fue del 69% y la consistencia de su validación cruzada del 100%.

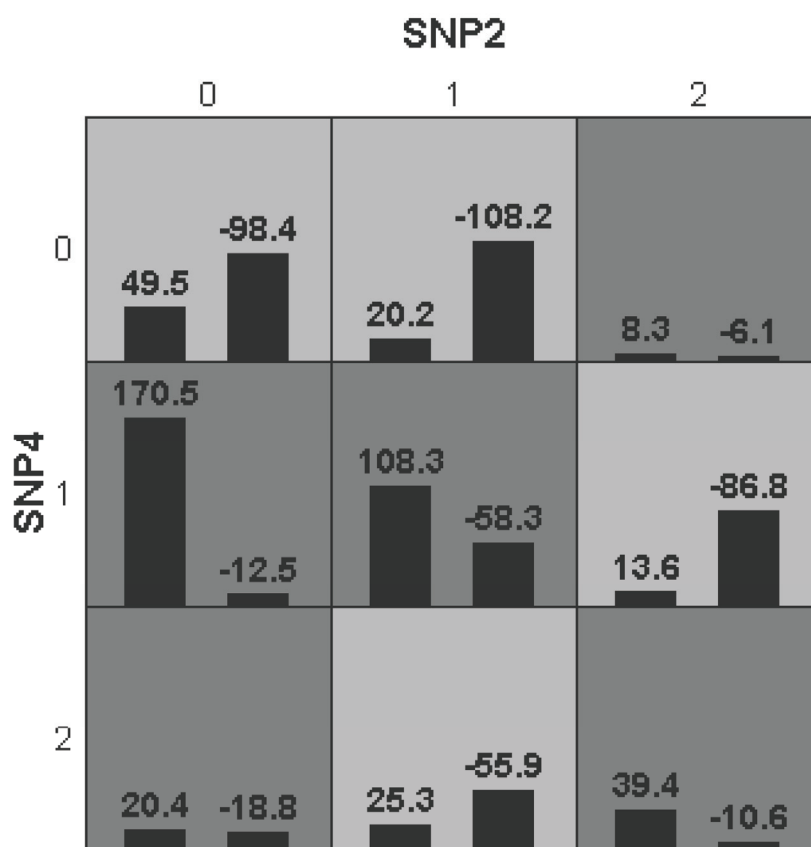
Tabla 4.26. Modelos de epístasis para el cambio en los niveles de colesterol total (mg/dl) en el estudio 3-LOVs (n=89) identificados con el método GMDR.

Combinaciones de <i>n</i> SNPs	Modelo (el mejor)*	Precisión de la predicción	Consistencia de la validación cruzada**	p***
2	SNP2, SNP4	0.6894	10/10	0.0107
3	SNP2, SNP4, SNP11	0.6923	8/10	0.0547
4	SNP4, SNP7, SNP9, SNP11	0.5393	3/10	0.6230
5	SNP4, SNP8, SNP9, SNP11, SNP14	0.7605	7/10	0.0547
6	SNP4, SNP8, SNP9, SNP11, SNP12, SNP13	0.8244	6/10	0.1719
7	SNP1, SNP4, SNP8, SNP9, SNP11, SNP12, SNP13	0.6451	4/10	0.6230

* El mejor modelo epistático (con *ensayo clínico*, *sexo*, *colesterol total basal*, *AUC_{dp_t} de la lactona* y *AUC_{dp_t} del hidroxiácido* como covariables) seleccionado de entre todas las combinaciones de *n* (2-7) elementos de entre los 15 SNPs analizados.

** Número de veces que el modelo ha sido seleccionado como el mejor respecto al total de validaciones cruzadas.

*** Test (no paramétrico) del signo.

**Figura 4.26.** Representación gráfica del mejor modelo de epístasis identificado (SNP2*SNP4) para el cambio en los niveles de colesterol total (mg/dl) en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris claro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a mejor respuesta hipolipemiente, mayor reducción respecto a la basal (valores negativos) y las de color gris oscuro peor (valores positivos).

En la **Figura 4.26** se representa en formato de tabla n -dimensional la interacción de los genotipos de ambos polimorfismos. Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color gris oscuro representan a valores fenotípicos altos y las de color gris claro a valores más bajos. En este caso, las de color gris claro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a una mejor respuesta hipolipemiente, mayor reducción respecto a la basal en los niveles de colesterol total (valores negativos) y las de color gris oscuro peor (valores positivos).

4.6.- Resumen de resultados

En la **Tabla 4.27** se presenta en forma resumida los resultados del presente estudio farmacogenético.

Tabla 4.27. Resumen de resultados del análisis farmacogenético de variables cinéticas y de respuesta hipolipemiante.																								
Estatina	Modelo/-variable (PK/PD)	Estrato	Genes y SNPs															Covariables						
			NR1I3			NR1I2			ABCB1		PON3	CYP3A5	GNB3	SLCO1B1		CYP1A2	CES2	Sexo	Ensayo Clínico	Colesterol total basal	AUC_t	OHAc-AUC_t	MR_t	
			SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	SNP7	SNP8	SNP9	SNP10	SNP11	SNP12	SNP13	SNP14	SNP15							
PRAVASTATINA	LMMR																							
	C _{max}													↓	↑									
	AUC _t													↓										
	CL/F													↑										
	t _{1/2}																i							
	RLM																							
	C _{max_t}	T O ₃ HO				↑								↓ ↓ ↓	↑ ↑ ↑									
	AUC _{t_t}	T O ₃ HO	↓			↑						↑	↓ ↓ ↓	↑ ↑ ↑										
	CL/F _t	T O ₃ HO				↓							↑ ↑ ↑	↓ ↓ ↓										
	ΔCT	T O ₃ HO												↓			↓			↑ ↑ ↑				
SIMVASTATINA	LMMR																							
	C _{max}																							
	AUC _t										i		i											
	CL/F										i		i											
	OHAc-C _{max}														↑ ₁			>=						
	OHAc-AUC _t														↑			>=						
	MR														↑ ₁			>=						
	RLM																							
	C _{max_t}	T O ₃ HO																						
	AUC _{t_t}	T O ₃ HO									↑													
	CL/F _t	T O ₃ HO																						
	OHAc-C _{max_t}	T O ₃ HO							↑		↑				↑ ↑ ↑	↓								
	OHAc-AUC _{t_t}	T O ₃ HO								↑		↓		↑ ↑ ↑	↑ ↑ ↑									
	MR t	T O ₃ HO				↓								↑ ↑ ↑	↑ ↑ ↑									
	ΔCT	T O ₃ HO											↑						↑ ↑ ↑		↓ ↓ ↓		↓ ↓ ↓	↑

(continúa...)

Tabla 4.27. (Continúa)

Estatina	Modelo/variable (PK/PD)	Estrato	Genes y SNPs															Covariables						
			NR1I3			NR1I2			ABCB1		PON3	CYP3A5	GNB3	SLCO1B1		CYP1A2	CES2	Sexo	Ensayo Clínico	Colesterol total basal	AUC_t	OHAc-AUC_t	MR_t	
			SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	SNP7	SNP8	SNP9	SNP10	SNP11	SNP12	SNP13	SNP14	SNP15							
LOVASTATINA	LMMR																							
	C _{max}																	> ₁₀						
	AUC _t																	> ₁₀						
	CL/F																	> ₁₀						
	OHAc-C _{max}															↑								
	OHAc-AUC _t															↑								
	MR															↑		> ₁₀						
	RLM																							
	C _{max_t}	T ♂ ♀																> ₁₀						
	AUC _{t_t}	T ♂ ♀											↓			↑		> ₁₀						
	CL/F _t	T ♂ ♀									↓		↓			↑		> ₁₀						
	OHAc-C _{max_t}	T ♂ ♀					↑				↑				↓	↑	↑			●				
	OHAc-AUC _{t_t}	T ♂ ♀						↑			↑		↓		↑	↑	↑							
	MR _t	T ♂ ♀											↑		↑	↑	↑							
	ΔCT	T ♂ ♀						↓							↓	↑					↑	↑		↓
	GMDR																							
	C _{max_t}																							
	AUC _{t_t}																							
	CL/F _t																							
	OHAc-C _{max_t}									●	●				●	●								
	OHAc-AUC _{t_t}		●							●				●	●									
	MR _t			●	●					●				●	●		●							
	ΔCT			●			●																	

Modelos: **LMMR** = modelo lineal de medidas repetidas; **RLM** = modelo de regresión lineal multivariante; **GMDR** = modelo de la reducción generalizada de la dimensionalidad multifactorial para detectar interacciones epistáticas.

Variables cinéticas: todas las variables están ajustadas por los mg de estatina administradas por kg de peso corporal; C_{max} = concentración plasmática máxima; AUC_t = área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo; CL/F = aclaramiento aparente; OHAc- = prefijo que identifica las variables cinéticas del hidroxiácido en el caso de lovastatina y simvastatina; MR = cociente metabólico corresponde al cociente entre el AUC_t del hidroxiácido dividido por el de la lactona en el caso de lovastatina y simvastatina; _t = sufijo que indica que las variables cinéticas en los modelos de RLM son "totales" correspondientes a la suma de los valores de cada una de las formulaciones.

Variable de respuesta hipolipemiente: ΔCT = reducción de los niveles de colesterol total respecto a los niveles basales; las flechas indican la asociación de los polimorfismos con Estratos: T = toda la población de hombres y mujeres juntos; ♂ = hombres; ♀ = mujeres.

Genes: se indica el símbolo oficial del nombre del gen según el HGNC (The Human Genome Organization) Gene Nomenclature Committee (<http://www.genenames.org>)

SNPs: se indican los 15 polimorfismos incluidos en el análisis (véase Tabla 3.4); el SNP16 y SNP17 del gen CYP3A4 fueron excluidos del análisis al resultar monomórficos.

Codificación de resultados: las flechas indican que existe un efecto estadísticamente significativo después del ajuste para comparaciones múltiples; ↑ = la variante alélica del SNP o el incremento de los valores de las covariables continuas se asocia a un incremento en los valores de las variables cinéticas, en el caso de la variable de respuesta hipolipemiente (ΔCT) indica que se asocia a una mayor reducción en los niveles de colesterol total; ↓ = la variante alélica del SNP o el incremento de los valores de las covariables continuas se asocia a un descenso en los valores de las variables cinéticas, en el caso de la variable de respuesta hipolipemiente (ΔCT) indica que se asocia a una menor reducción en los niveles de colesterol total; • = indica a los SNPs retenidos en el modelo epistático o la existencia de diferencias significativas entre los tres ensayos clínicos de bioequivalencia con lovastatina; I = existencia de una interacción entre sexo y SNP según el modelo LMMR número 4.

Diferencias entre sexos: >♀ = diferencias a favor de las mujeres; >♂ = diferencias a favor de los hombres.

5 DISCUSIÓN

5.1.- Frecuencias genotípicas y alélicas

En nuestro estudio hemos genotipado a 207 (106 varones y 101 mujeres) voluntarios sanos españoles participantes en ensayos clínicos de bioequivalencia para 17 polimorfismos o SNPs ("*single nucleotide polymorphisms*") en 10 genes involucrados en los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación (ADME) de las estatinas lovastatina, simvastatina y pravastatina (**Tabla 3.4**, pág. 138). Dos de estos polimorfismos, las variantes alélicas *CYP3A4*17* (SNP17, rs4987161, T>C, p.F189S) y *CYP3A4*18* (SNP16, rs28371759, T>C, p.L293P) del gen *CYP3A4*, resultaron ser monomórficos al no detectarse ningún portador ni hetero ni homocigoto de estas variantes en nuestra población de estudio. Dado que la presencia del alelo *CYP3A4*18* se ha descrito sólo en asiáticos con una frecuencia alélica del 2% y no se ha detectado en caucasianos ni en africanos (Dai y cols., 2001; Fukushima-Uesaka y cols., 2004) el hallazgo de una frecuencia alélica menor de 0.24% (<1/414 cromosomas) en muestra población de voluntarios sanos españoles (n=207) era en cierto modo previsible. Sin embargo, en el caso del alelo *CYP3A4*17* la ausencia de portadores en nuestra población de estudio fue una sorpresa ya que su presencia se había descrito sólo en caucasianos y con una frecuencia alélica del 2% (Dai y cols., 2001). No obstante, nuestros resultados están en sintonía con la ausencia de portadores del alelo *CYP3A4*17* entre los 120 caucasianos de origen centroeuropeo genotipados en el Proyecto HapMap. Una posible explicación de este hecho sería que en el estudio original el alelo *CYP3A4*17* se detectó sólo en los caucasianos de Europa del Este y no en los centroeuropeos (Dai y cols., 2001).

El hecho de que el alelo *CYP3A4*18* es el único que se asocia a un aumento de actividad enzimática *CYP3A4* (Dai y cols., 2001; Kang y cols., 2009) y de que el alelo *CYP3A4*17* se asocia a pérdida de actividad >90% (Dai y cols., 2001; Lee y cols., 2005a) siendo uno de los escasos polimorfismos con repercusión sobre la actividad del *CYP3A4* descritos en caucasianos, a parte del alelo *CYP3A4*1B* cuyo efecto funcional actualmente es discutible (Amirimani y cols., 2003; Spurdle y cols., 2002), y dada la importancia de esta enzima en el metabolismo de las estatinas, hizo que los incluyéramos en el panel de polimorfismos a investigar.

Los 15 SNPs restantes resultaron ser polimórficos, por lo que sus genotipos fueron incluidos en todos los análisis realizados. Todos cumplen el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) en nuestra población de hombres y mujeres (n=207) (**Tabla 4.2**,

pág. 176). Sin embargo, el análisis estratificado por sexo reveló que en los hombres los SNP12 y SNP13 se desviaban del EHW por un exceso de heterocigotos u homocigotos, respectivamente (**Figura 4.2**, pág. 176).

Las causas más frecuentes de incumplimiento del EHW son los errores de genotipado y la presencia de estratificación en la población analizada (Balding, 2006). Dado que estos dos SNPs cumplen el EHW en la población completa de voluntarios sanos, al igual que en la de mujeres, parece poco probable que la desviación del EHW sea debida a un error sistemático de genotipado que afecte en mayor proporción a los hombres. La ausencia de diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de genotipos válidos o no indeterminados entre hombres y mujeres para estos dos SNPs ni para ninguno de los trece restantes (**Tabla A2.2**, pág. A29), la falta de diferencias en el porcentaje del éxito de genotipado entre nuestra población y la población de caucasianos del Proyecto HapMap (HapMap-CEU) (**Tabla A2.1**, pág. A28), al igual que la utilización de una técnica de genotipado validada como los test comerciales TaqMan® de discriminación alélica hace fácilmente descartable esta explicación. La posibilidad de que se deba a la presencia de estratificación genética en la población masculina y no en la femenina, y que ésta se diluya en la población completa, aunque no descartable, dado el heterogéneo origen geográfico peninsular de los voluntarios mayoritariamente estudiantes, es difícilmente comprobable sin la ayuda de marcadores de información ancestral ("*ancestral informative markers*") (Kosoy y cols., 2009) que no hemos utilizado.

5.1.1.- Comparación con la población de caucasianos del Proyecto HapMap

Como hemos comentado antes, el éxito de nuestra técnica de genotipado (test comerciales TaqMan® de discriminación alélica) es comparable a la de la de los caucasianos norte-americanos de origen centroeuropeo del Proyecto HapMap (HapMap-CEU), por lo que podemos hacer la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas entre las dos poblaciones sin que el resultado se vea sesgado por diferencias en la proporción de individuos con genotipos indeterminados. En nuestra población la proporción de sujetos con genotipos válidos fue siempre superior al 98% frente al 96% de la población HapMap-CEU (**Tabla A2.1**, pág. A28).

Los polimorfismos que presentaron diferencias estadísticamente significativas con la población HapMap-CEU fueron dos: el SNP5 (c.11156A>C, Ex10-79A>C,

rs3814057) y el SNP6 (c.11193T>C, Ex10-42T>C, rs3814058) ambos del gen *NR1I2*.

La frecuencia alélica del alelo mutado fue para ambos polimorfismos casi un 11% (16.91 vs 6.03%) más elevada en nuestra población que en la de HapMap-CEU. El porcentaje de portadores tanto heterocigotos como homocigotos del alelo mutado fue un 14% (26.09 vs 12.07%) y casi un 4% (3.86 vs 0%), respectivamente, más elevado en nuestra población (CFC-ESP) que en la de HapMap-CEU (véase **Tabla 4.3**, pág. 180). La magnitud de estas diferencias sugiere que la población de caucasianos incluida en HapMap (HapMap-CEU), en el caso de estos dos polimorfismos en el gen *NR1I2*, no representa de un modo fiable las frecuencias alélicas y genotípicas en otras poblaciones caucásicas (Zhang y cols., 2001; Karlsen y cols., 2006; Sookoian y cols., 2010) incluida la nuestra (CFC-ESP). La frecuencia alélica de ambos polimorfismos descrita por Zhang y cols. (2001) en 75 caucasianos (sin aportar más datos sobre su origen) fue del 16%, similar a la observada en nuestra población. La frecuencia alélica del SNP5 (c.11156A>C, Ex10-79A>C, rs3814057) descrita por Sookoian y cols. (2010) en 102 argentinos sanos de origen europeo fue casi idéntica a la nuestra (17.4%). Por último, la frecuencia alélica del SNP6 (c.11193T>C, Ex10-42T>C, rs3814058) descrita por Karlsen y cols. (2006) en 275 noruegos sanos fue del 16.1%, también muy próxima a la observada por nosotros.

Las frecuencias alélicas de los polimorfismos *1b (c.388A>G, rs2306283, p.N130D, SNP12) y el *5 (c.521T>C, rs4149056, p.V174A, SNP13) del gen *SLCO1B1* presentan una correlación diferente con la latitud en el hemisferio norte. La frecuencia alélica del alelo *5 (SNP13) aumenta del ecuador al norte, en cambio, la del alelo *1b (SNP12) se reduce a medida que nos alejamos del ecuador al norte (Pasanen y cols., 2008a). Al igual que en este último caso, la frecuencia alélica del SNP11 (c.825C>T, rs5443, p.S275S) en el gen *GNB3* también se reduce a medida que nos alejamos del ecuador al norte (Young y cols., 2005).

5.1.2.- Comparación con otras poblaciones españolas

Hasta la fecha del análisis del presente estudio se han publicado en la literatura las frecuencias alélicas y genotípicas de 5 de los 15 polimorfismos que hemos investigado. Los polimorfismos cuyas frecuencias alélicas y genotípicas han sido descritas en poblaciones de Badajoz, Madrid, Zaragoza o Barcelona son el SNP4 (rs3814055, -25385C>T) del gen *NR1I2*, el SNP8 (rs1045642, c.3435C>T) del gen *ABCB1*, el SNP10 (rs776746, g.6986A>G) del gen *CYP3A5*, el SNP11 (rs5443,

c.825C>T) del gen *GNB3* y el SNP14 (rs762551, -163C>A) del gen *CYP1A2* (**Tabla 4.5**, pág. 188 y **Tabla 4.6**, pág. 190). Las frecuencias de estos 5 polimorfismos descritos en nuestra población de voluntarios sanos españoles (CFC-ESP, n=207) analizada en este estudio son similares a las descritas en estas otras poblaciones españolas. Sólo el SNP8 (rs1045642) del gen *ABCB1* presentó una frecuencia alélica en nuestro estudio 8% inferior (42% vs. 50%) a la descrita por Gervasini y cols. (2007) en una población de universitarios de Badajoz. Sin embargo, fue similar a la descrita por Bernal y col. (2003) y Urcelay y col. (2006) en poblaciones de Zaragoza y Madrid, respectivamente. Para los restantes 10 polimorfismos no hemos encontrado en la literatura la descripción de su frecuencias alélicas y genotípicas en poblaciones españolas, por lo tanto, el nuestro es el primer estudio que las describe.

5.1.3.- Comparación con las tres subpoblaciones (3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA)

La población de nuestro estudio (n=207) está integrada por voluntarios sanos que han participado en ensayos clínicos de bioequivalencia con estatinas (lovastatina, simvastatina y pravastatina) y otros fármacos. Por ello hemos considerado oportuno investigar si las 3 subpoblaciones de voluntarios que han recibido las tres estatinas son representativas de la población de estudio global. No hemos detectado diferencias entre la población global y cada una de ellas lo que sugiere que todas son muestras representativas de la diversidad genotípica de la población total (n=207).

5.1.4.- Comparación entre hombres y mujeres

En nuestra población de estudio (CFC-ESP, 106 hombres y 101 mujeres) fueron tres los polimorfismos con una frecuencia alélica y genotípica estadísticamente diferente entre ambos sexos (**Tabla 4.7**, pág. 192 y **Tabla 4.8**, pág. 197). La frecuencia alélica de alelo mutado del SNP2 del gen *NR1I3* fue casi un 10% más alta en hombres que en mujeres. En cambio, la frecuencia alélica de alelo mutado del SNP3, del mismo gen, fue un 11% más baja en hombres. En el caso del SNP11 del gen *GNB3* la frecuencia alélica de alelo mutado, también, fue un 11% más baja en hombres.

En los voluntarios que participaron en ensayos clínicos de bioequivalencia con lovastatina (3-LOVs, 51 hombres y 49 mujeres) sólo se detectaron diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en dos de los 15 polimorfismos analizados (**Tabla 4.7**, pág. 192 y **Tabla**

4.8, pág. 197). La frecuencia alélica de alelo mutado del SNP2 del gen *NR1I3* fue casi un 17% más alta en hombres que en mujeres. En cambio, la frecuencia alélica de alelo mutado del SNP3, del mismo gen, fue un 21% más baja en hombres. La magnitud de estas diferencias y su dirección es muy similar a la observada en la población global (n=207).

En los voluntarios que participaron en el ensayo clínico de bioequivalencia con simvastatina (84-SIM, 18 hombres y 18 mujeres) sólo se detectaron diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en uno de los 15 polimorfismos analizados (**Tabla 4.7**, pág. 192 y **Tabla 4.8**, pág. 197). La frecuencia alélica de alelo mutado del SNP13 del gen *SLCO1B1* fue un 19% más baja en los hombres que en las mujeres del estudio 84-SIM.

Por último, en los voluntarios que participaron en el ensayo clínico de bioequivalencia con pravastatina (91-PRA, 18 hombres y 18 mujeres), al igual que en el caso anterior, se detectaron diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas estadísticamente significativas entre hombres y mujeres sólo en uno de los 15 polimorfismos analizados (**Tabla 4.7**, pág. 192 y **Tabla 4.8**, pág. 197). La frecuencia alélica de alelo mutado del SNP9 del gen *PON3* fue casi 25% más baja en los hombres que en las mujeres de este estudio.

La ausencia de diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de individuos con genotipo válido entre ambos sexos en ninguno de los 15 polimorfismos analizados en la población de estudio o las tres subpoblaciones (**Tablas A2.2 - A2.5**, pág. A29 - A32) indica que estas diferencias no son debidas a una proporción desigual en el éxito del genotipado entre hombres y mujeres. La inexistencia de desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) en ambos sexos (**Tabla 4.2**, pág. 176), a excepción del SNP12 que en los hombres de la población global (CFC-ESP) se desvía del EHW por un exceso de heterocigotos (**Figura 4.2**, pág. 177), sugiere que tampoco son debidas a una distribución desigual de los errores de genotipado entre los sexos. Dado que a diferencia de los cromosomas sexuales el genoma autosómico, y los 15 polimorfismos analizados pertenecen a genes autosómicos, es idéntico entre ambos sexos (Ober y cols., 2008), la secuencia de ADN, la estructura de los genes y la frecuencia de los polimorfismos son igualmente idénticas entre hombres y mujeres. De modo que las diferencias observadas en las frecuencias de los polimorfismos entre sexos son espurias resultado probablemente de la presencia de una estratificación genética diferente entre hombres y mujeres. La relevancia de estas diferencias espurias

sería manifiesta en la evaluación de la existencia de interacción entre el sexo y los polimorfismos, es decir, la existencia de una diferencia en la magnitud o la dirección del efecto de un polimorfismo entre hombres y mujeres.

5.2.- Análisis de las variables farmacocinéticas

Las variables farmacocinéticas de las tres estatinas investigadas (lovastatina, simvastatina y pravastatina) fueron analizadas de dos formas. En el primer caso se utilizó un modelo lineal mixto de medidas repetidas (LMMR) que tiene en cuenta el efecto formulación y en el segundo un modelo de regresión lineal multivariante (RLM) con el que se analizaron los valores totales de las variables cinéticas de exposición correspondientes a la suma de los valores individuales de las formulaciones test y referencia de cada una de las estatinas. Con el primer modelo se describió la magnitud de las diferencias en las variables cinéticas en función de las distintas covariables independientes. En cambio, con el modelo de RLM se estimó el porcentaje de la variabilidad interindividual en las variables cinéticas que explicaba cada covariable independiente ajustado por el efecto del resto de covariables incluidas en el modelo.

Los valores de los parámetros cinéticos de lovastatina (Keskitalo y cols., 2009b), simvastatina (Keskitalo y cols., 2009a) y pravastatina (Almeida y cols., 2006; Igel y cols., 2006; Keskitalo y cols., 2009a) en nuestros estudios de bioequivalencia son similares a los publicados en la literatura (véase **Tabla 1.3**, pág. 17 y **Tablas A2.6, A2.7 y A2.8**, pág. A33-A34). Llama la atención que dos estatinas como lovastatina y simvastatina con estructura y perfil ADME tan similar presentan un cociente metabólico ($MR = AUC_t \text{ hidroxilado} / AUC_t \text{ lactona}$) tan diferente (mayor de 1 y menor de 1, respectivamente). Esto hace que la proporción de hidroxilado de lovastatina circulante en sangre periférica sea superior al de la lactona (véase **Figura A1.3 - A1.5**, pág. A3-A4), en cambio, sea la lactona la forma mayoritaria circulante en el caso de la simvastatina (véase **Figura A1.2**, pág. A2).

5.2.1.- Diferencias entre sexos

La magnitud de las diferencias entre hombres y mujeres en las variables farmacocinéticas fue analizada con el segundo modelo lineal mixto de medidas repetidas (LMMR) (véase **Figura 3.7**, pág. 159 y el apartado 3.4.2.2, pág. 160). Para distinguir entre las diferencias entre sexos debidas a la existencia de diferencias anatómicas y las diferencias intrínsecas a la condición de ser hombre o mujer hemos aplicado a las variables farmacocinéticas dosis dependientes (C_{max} , AUC_t y Cl/F) tres tipos de ajustes: 1) por el peso corporal total, 2) por el peso corporal total de una persona de 70 kg, y 3) por los mg de dosis de estatina administrada por kg de peso corporal total (mg/kg).

Estas son las tres formas de ajuste por el peso corporal más frecuentemente utilizadas en la literatura (Hesselink y cols., 2003; Niemi y cols., 2006a; Almeida y cols., 2006) aparte de la opción de incluir en el modelo el peso como otra covariable independiente (Chen y cols., 2000). No hemos optado por ésta última para evitar sobrecargar con otra covariable más al modelo ya de por sí cargado con varias covariables (efecto formulación, periodo y secuencia). La forma de ajustar a las variables farmacocinéticas por los mg de dosis de fármaco administrado por kg de peso corporal total es utilizada con frecuencia en los estudios cinéticos con inmunosupresores (Hesselink y cols., 2003).

Por último, hemos utilizado un modelo de RLM para analizar el porcentaje de la variabilidad interindividual en las variables farmacocinéticas ajustadas por los mg de dosis estatina administrada por kg de peso corporal total (mg/kg) explicado por el sexo.

5.2.1.1.- Lovastatina

Hemos analizado las diferencias farmacocinéticas entre los 51 hombres y las 49 mujeres que han participado en los tres ensayos clínicos de bioequivalencia con lovastatina (3-LOVs). Para la descripción de la magnitud de las diferencias entre ambos sexos en las 18 variables farmacocinéticas de la lactona y del hidroxíácido de lovastatina (véase **Tabla 4.11**, pág. 208) hemos utilizado, tomando como referencia a los hombres, los valores predichos (ajustadas por las covariables formulación, periodo, secuencia y ensayo) por el *modelo LMMR 2* (véase **Figura 3.10**, pág. 165). En cambio, hemos utilizado un modelo de RLM (véase apartado 3.4.3, pág. 166) para analizar el porcentaje de la variabilidad interindividual en las variables farmacocinéticas “totales” resultantes de la suma de los valores correspondientes a la formulación test y referencia ajustadas por los mg de dosis estatina administrada por kg de peso corporal total (mg/kg) explicado por el sexo (véase **Tabla 4.17**, pág. 238).

La C_{max} de la lactona de lovastatina de los hombres fue un 17% (IC95%: 5.5-40) más alta que la de las mujeres. Al ajustarla por el peso corporal total (C_{max_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (C_{max_p70}) esta diferencia desapareció. En cambio, al ajustarla por los mg de lovastatina administrados por kg de peso corporal total (C_{max_dp}) se recuperó la diferencia a favor de los hombres incrementándose hasta los 34% (IC95%: 12-57) (véase a **Tabla 4.11**, pág. 208). En el modelo de RLM el sexo explicaba el 14% de la variabilidad interindividual en la $C_{max_dp_t}$ (véase **Tabla 4.17**, pág. 238).

No hubo diferencias entre ambos sexos en el AUC_t de la lactona sin y ajustado por el peso corporal total (AUC_{t_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (AUC_{t_p70}). En cambio, el AUC_t ajustado por los *mg* de lovastatina administrados por *kg* de peso corporal total (AUC_{t_dp}) fue un 27% (IC95%: 1.7-54) más alto en los hombres. Recíprocamente, el aclaramiento aparente, Cl/F (ml/min/kg), de la lactona de lovastatina fue un 38% (IC95%: 2.3-74) más alto en las mujeres (véase **Tabla 4.11**, pág. 208). En el modelo de RLM el sexo explicaba el 7% y el 6.5% de la variabilidad interindividual en la $AUC_{t_dp_t}$ y el Cl/F_t , respectivamente (véase **Tabla 4.17**, pág. 238).

La C_{max} del hidroxiácido (OHAc) de lovastatina fue un 39% (IC95%: 5-84) más alta en las mujeres que en los hombres. Al ajustarla por el peso corporal total (C_{max_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (C_{max_p70}) esta diferencia se incrementó hasta los 74% (IC95%: 23-128) pero desapareció al ajustarla por los *mg* de lovastatina administrados por *kg* de peso corporal total (C_{max_dp}) (véase **Tabla 4.11**, pág. 208). En el modelo de RLM el sexo tampoco explicaba un porcentaje significativo de la variabilidad interindividual en la $C_{max_dp_t}$ (véase **Tabla 4.17**, pág. 238).

No hubo diferencias entre ambos sexos en el AUC_t del OHAc de lovastatina sin ajustar y ajustado por los *mg* de lovastatina administrados por *kg* de peso corporal total (AUC_{t_dp}). El AUC_t del OHAc de lovastatina resultó ser un 56% (IC95%: 3.2-111) más alto en las mujeres que en los hombres únicamente después de ajustarlo por el peso corporal total (AUC_{t_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (AUC_{t_p70}) (véase **Tabla 4.11**, pág. 208). Al igual que en el caso anterior el sexo tampoco explicaba un porcentaje significativo de la variabilidad interindividual en el $AUC_{t_dp_t}$ (véase **Tabla 4.17**, pág. 238).

En cambio, el MR ("*metabolic ratio*") o cociente metabólico entre el AUC_t del hidroxiácido y el AUC_t de la lactona de lovastatina ajustados por los *mg* de lovastatina administrados por *kg* de peso corporal total, fue un 33% (IC95%: 9-76) más alto en la mujeres que en los hombres. Sin embargo, el sexo no fue retenido en el modelo de RLM al ser incapaz de explicar una parte significativa de la variabilidad interindividual en el MR_t (véase **Tabla 4.17**, pág. 238).

Cabe reseñar la existencia, entre los 51 hombres y las 49 mujeres que han participado en los tres ensayos clínicos de bioequivalencia con lovastatina (3-LOVs),

de diferencias anatómicas entre ambos sexos. Los hombres presentaron un peso corporal total de media unos 15 kg superior al de las mujeres al igual que su talla fue de media unos 13 cm más alta (véase **Tabla 4.1**, pág. 174). Esta diferencia en el peso corporal total se tradujo en una diferencia estadísticamente significativa en la dosis de lovastatina recibida por unidad de peso corporal (mg/kg) (véase **Figura 4.1**, pág. 175). De esta forma, las mujeres recibían de media un 26% más miligramos de lovastatina (3-LOVs) por kilo de peso corporal que los hombres.

No obstante, los resultados de nuestro estudio demuestran que las diferencias entre sexos en los parámetros farmacocinéticos de lovastatina no son explicables por las diferencias existentes en el peso corporal total. Las mujeres, a pesar de recibir de media una dosis de lovastatina por *kg* de peso corporal un 26% (IC95%: 20-31) mayor que los hombres, tienen una C_{\max} y un AUC_t de lactona de lovastatina ajustada por los *mg* administrados por *kg* de peso corporal total un 34% (IC95%: 12-57) y un 27% (IC95%: 1.7-54) menor que los hombres, respectivamente. La explicación de estos hallazgos debemos buscarla en las diferencias en el aclaramiento aparente (Cl/F , ml/min/kg) de lovastatina entre sexos. Las mujeres aclaran la lactona de lovastatina por *kg* de peso corporal un 38% (IC95%: 2.3-74) más rápido que los hombres.

A la hora de buscar una explicación a esta diferencia en el aclaramiento aparente habría que tener en cuenta la presencia de una mayor actividad enzimática de la CYP3A (Greenblatt y cols., 2008) y de una mayor actividad de una de las paraoxonasas (PON1) (Winnier y cols., 2007) en las mujeres respecto a los hombres, y de la mayor actividad enzimática de las UDP-glucuroniltransferasas descrita en los hombres (Schwartz, 2003) al igual que de la mayor expresión del transportador ABCB1 a nivel hepático en los hombres (Schuetz y cols., 1995).

Hasta la fecha el único estudio que ha analizado la existencia de diferencias en los parámetros farmacocinéticos de lovastatina entre hombres y mujeres es el publicado por la farmacéutica productora de esta estatina. Cheng y cols. (1992) evaluaron las diferencias entre sexos en los parámetros farmacocinéticos de lovastatina en 16 pacientes (7 hombres y 9 mujeres) mayores de 70 años y 18 jóvenes (9 hombres y 9 mujeres) de edades comprendidas entre los 19 y los 30 años todos ellos con hipercolesterolemia primaria. La evaluación de las diferencias se realizó en estado de equilibrio estacionario después de un tratamiento con 80 mg diarios de lovastatina durante 17 días. El AUC_{0-24h} y la C_{\max} medios de lovastatina (actividad inhibidora total en plasma, correspondiente al hidroxiaácido de

lovastatina y sus metabolitos) fueron de entre un 20% y un 50% mayores en las mujeres pero no alcanzaron la significación estadística a excepción de los valores de C_{\max} . A pesar de que nuestro estudio de mayor tamaño muestral (51 hombres y 49 mujeres) fue realizado en voluntarios sanos que recibieron una dosis única de lovastatina de 40 mg y salvando las diferencias en el método analítico obtuvimos los mismos resultados. Los valores de C_{\max} y AUC_t del hidroxácido de lovastatina sin ajustar de ninguna forma por el peso corporal fueron un 39% (IC95%: 5 - 84) y un 24% (IC95%: -21 - 69) mayores en las mujeres, respectivamente, pero alcanzaron sólo significación estadística en el caso de la C_{\max} .

5.2.1.2.- Simvastatina

A diferencia de la lovastatina hemos analizado las diferencias farmacocinéticas entre los 18 hombres y las 18 mujeres que han participado en el único ensayo clínico de bioequivalencia con simvastatina (84-SIM). Para la descripción de la magnitud de las diferencias entre ambos sexos en las 18 variables farmacocinéticas de la lactona y del hidroxácido de simvastatina (véase **Tabla 4.10**, pág. 204) hemos utilizado, tomando como referencia a los hombres, los valores predichos (ajustadas por las covariables formulación, periodo y secuencia) por el *modelo LMMR 2* (véase **Figura 3.9**, pág. 163). En cambio, hemos utilizado un modelo de RLM (véase apartado 3.4.3, pág. 166) para analizar el porcentaje de la variabilidad interindividual en las variables farmacocinéticas “totales” resultantes de la suma de los valores correspondientes a la formulación test y referencia ajustadas por los *mg* de dosis estatina administrada por *kg* de peso corporal total (mg/kg) explicado por el sexo (véase **Tabla 4.16**, pág. 234).

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en las variables farmacocinéticas de la lactona de simvastatina (véase **Tabla 4.10**, pág. 204) probablemente debido al menor poder estadístico del modelo con sólo 36 voluntarios sanos. Igualmente el sexo no fue retenido en el modelo de RLM al ser incapaz de explicar una parte significativa de la variabilidad interindividual de ninguna de las variables cinéticas de la lactona de simvastatina (véase **Tabla 4.16**, pág. 234).

En cambio, se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en varias de las variables farmacocinéticas del hidroxácido (OHAc) de simvastatina (véase **Tabla 4.10**, pág. 204), aunque en el modelo de RLM el sexo no explicara un porcentaje significativo de la variabilidad interindividual de ninguna de ellas (véase **Tabla 4.16**, pág. 234).

Las mujeres presentaron una C_{\max} del OHAc un 108% (IC95%: 13-216) más alta que los hombres. Al ajustarla por el peso corporal total (C_{\max_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (C_{\max_p70}) esta diferencia se incrementó hasta los 152% (IC95%: 44-275). Finalmente, al ajustarla por los *mg* de simvastatina administrados por *kg* de peso corporal total (C_{\max_dp}) la diferencia a favor de las mujeres se redujo hasta los 73% (IC95%: 16-171) (véase **Tabla 4.10**, pág. 204).

En el caso del AUC_t del OHAc se mantuvo la misma tendencia. Las mujeres presentaron un AUC_t 76% (IC95%: 12-172) más alto que el de los hombres. Esta diferencia se incrementó y alcanzó el 111% (IC95%: 14-220) después de ajustarlo por el peso corporal total (AUC_{t_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (AUC_{t_p70}). Sin embargo, al igual que con la lactona, al ajustarla por los *mg* de simvastatina administrados por *kg* de peso corporal total (AUC_{t_dp}) la diferencia a favor de las mujeres se redujo hasta el 47% y perdió su significación estadística ($p=0.107$) (véase **Tabla 4.10**, pág. 204). No obstante, el MR ("metabolic ratio") o cociente metabólico, calculado mediante la fórmula $MR = AUC_t \text{ hidroxiácido} / AUC_t \text{ lactona}$, fue un 123% (IC95%: 36-134) más alto en la mujeres que en los hombres. Sin embargo, el sexo no fue retenido en el modelo de RLM al ser incapaz de explicar una parte significativa de la variabilidad interindividual en el MR_t (véase **Tabla 4.16**, pág. 234).

Al igual que en caso de la lovastatina, entre los 18 hombres y las 18 mujeres que han participado en el ensayo clínico de bioequivalencia con simvastatina (84-SIM) existen diferencias anatómicas. Los hombres presentaron un peso corporal total de media unos 12 kg superior al de las mujeres al igual que su talla fue de media unos 13 cm más alta (véase **Tabla 4.1**, pág. 174). Esta diferencia en el peso corporal total se tradujo en una diferencia estadísticamente significativa en la dosis de simvastatina recibida por unidad de peso corporal (mg/kg) (véase **Figura 4.1**, pág. 175). De esta forma, las mujeres recibían de media un 21% más miligramos de simvastatina (84-SIM) por kilo de peso corporal que los hombres.

Los resultados de nuestro estudio demuestran que no existen diferencias entre sexos en los parámetros farmacocinéticos de la lactona de simvastatina. En cambio, las diferencias existentes entre ambos sexos en los parámetros cinéticos del hidroxiácido de simvastatina son explicables por las diferencias existentes en el peso corporal total entre hombres y mujeres. Las diferencias en el cociente

metabólico entre ambos sexos (MR 123% mayor en las mujeres) indican que la transformación de la lactona de simvastatina en hidroxiácido es mayor en las mujeres que en los hombres. Sin embargo, dada la compleja interconversión entre lactona e hidroxiácido (véase **Figura 1.5**, pág. 19) este hallazgo ha de tomarse con cautela ya que el sexo no fue retenido en el modelo de RLM.

Sin duda, a la hora de buscar una explicación a diferencia entre sexos en la transformación de la lactona de simvastatina en hidroxiácido habría que tener en cuenta la presencia de una mayor actividad enzimática de la CYP3A (Greenblatt y cols., 2008) y de una mayor actividad de una de las paraoxonasas (PON1) (Winnier y cols., 2007) en las mujeres respecto a los hombres, y de la mayor actividad enzimática de las UDP-glucuroniltransferasas descrita en los hombres (Schwartz, 2003) al igual que de la mayor expresión del transportador ABCB1 a nivel hepático en los hombres (Schuetz y cols., 1995).

Igual que en el caso de la lovastatina el único estudio que hasta la fecha ha analizado la existencia de diferencias en los parámetros farmacocinéticos de simvastatina entre hombres y mujeres es el publicado por la farmacéutica productora de esta estatina. Cheng y cols. (1992) evaluaron, utilizando un diseño cruzado, también las diferencias entre sexos en los parámetros farmacocinéticos de simvastatina en 16 pacientes (7 hombres y 9 mujeres) mayores de 70 años y 18 jóvenes (9 hombres y 9 mujeres) de edades comprendidas entre los 19 y los 30 años todos ellos con hipercolesterolemia primaria. La evaluación de las diferencias se realizó también en estado de equilibrio estacionario después de un tratamiento con 40 mg diarios de simvastatina durante 17 días. El AUC_{0-24h} y la C_{max} medios de simvastatina (actividad inhibidora total en plasma, correspondiente al hidroxiácido de simvastatina y sus metabolitos) fueron de entre un 20% y un 50% mayores en las mujeres pero no alcanzaron la significación estadística a excepción de los valores de C_{max} . En este caso, nuestro estudio tuvo un tamaño muestral similar (18 hombres y 18 mujeres) realizado en voluntarios sanos que recibieron la misma dosis de simvastatina (40 mg), aunque no en estado de equilibrio estacionario, y salvando las diferencias en el método analítico obtuvimos unos resultados similares. Los valores de C_{max} y AUC_t del hidroxiácido de simvastatina sin ajustar de ninguna forma por el peso corporal fueron un 108% (IC95%: 13 - 216) y un 76% (IC95%: 12 - 172) mayores en las mujeres, respectivamente, y en ambos casos alcanzaron la significación estadística.

5.2.1.3.- Pravastatina

Al igual que en el caso de la simvastatina hemos analizado las diferencias farmacocinéticas entre los 18 hombres y las 18 mujeres que han participado en el único ensayo clínico de bioequivalencia con pravastatina (91-PRA). Para la descripción de la magnitud de las diferencias entre ambos sexos en las 10 variables farmacocinéticas de la pravastatina (véase **Tabla 4.9**, pág. 202) hemos utilizado, tomando como referencia a los hombres, los valores predichos (ajustadas por las covariables formulación, periodo y secuencia) por el *modelo LMMR 2* (véase **Figura 3.8**, pág. 161). En cambio, hemos utilizado un modelo de RLM (véase apartado 3.4.3, pág. 166) para analizar el porcentaje de la variabilidad interindividual en las variables farmacocinéticas “totales” resultantes de la suma de los valores correspondientes a la formulación test y referencia ajustadas por los *mg* de dosis estatina administrada por *kg* de peso corporal total (*mg/kg*) explicado por el sexo (véase **Tabla 4.15**, pág. 230).

Las mujeres presentaron una C_{\max} de pravastatina un 53% (IC95%: 5.07-102.94) más alta que los hombres. Al ajustarla por el peso corporal total (C_{\max_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (C_{\max_p70}) esta diferencia se incrementó hasta los 86% (IC95%: 31-144). No obstante, al ajustarla por los *mg* de pravastatina administrados por *kg* de peso corporal total (C_{\max_dp}) la diferencia a favor de las mujeres se redujo hasta los 26% y perdió su significación estadística (véase **Tabla 4.9**, pág. 202).

En el caso del AUC_t de pravastatina se mantuvo la misma tendencia. Las mujeres presentaron un AUC_t 57% (IC95%: 8-109) más alto que el de los hombres. Esta diferencia se incrementó y alcanzó el 90% (IC95%: 35-150) después de ajustarlo por el peso corporal total (AUC_{t_p}) o por el peso corporal de una persona estándar de 70 kg (AUC_{t_p70}). Sin embargo, al ajustarla por los *mg* de pravastatina administrados por *kg* de peso corporal total (AUC_{t_dp}), de nuevo, la diferencia a favor de las mujeres se redujo hasta los 29% y perdió su significación estadística (véase **Tabla 4.9**, pág. 202). El aclaramiento aparente de pravastatina, Cl/F (*ml/min/kg*), fue de media un 23% más alto en los hombres, pero al igual que el AUC_{t_dp} , no alcanzó la significación estadística. No se detectaron diferencias entre hombres y mujeres en la vida media de eliminación ($t_{1/2}$) de pravastatina.

Al igual que con las otras dos estatinas entre los 18 hombres y las 18 mujeres que participaron en el ensayo clínico de bioequivalencia con pravastatina (91-PRA)

existen diferencias anatómicas. Los hombres presentaron un peso corporal total de media unos 12 kg superior al de las mujeres al igual que su talla fue de media unos 14 cm más alta (véase **Tabla 4.1**, pág. 174). Esta diferencia en el peso corporal total se tradujo en una diferencia estadísticamente significativa en la dosis de pravastatina recibida por unidad de peso corporal (mg/kg) (véase **Figura 4.1**, pág. 175). De esta forma, las mujeres recibían de media un 22% más miligramos de pravastatina (91-PRA) por kilo de peso corporal que los hombres.

Los resultados de nuestro estudio demuestran que las diferencias descritas entre sexos en los parámetros farmacocinéticos (C_{\max} y AUC_t) de pravastatina son debidas a las diferencias anatómicas entre hombres y mujeres que hacen que ellas reciban una mayor dosis por kilo de peso corporal.

Hasta la fecha se han publicado cinco estudios que han evaluado las diferencias entre ambos sexos en los parámetros cinéticos de pravastatina. En los tres primeros estudios no se realizaron ajustes de ningún tipo por el peso corporal en los valores de la C_{\max} y el AUC_t , aun así no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres (Pan y cols., 1993; Sigurbjörnsson y cols., 1998; Niemi y cols., 2004). En los dos estudios restantes se realizaron diferentes ajustes de las variables cinéticas.

En el primero de ellos la evaluación de las diferencias entre hombres y mujeres en los parámetros cinéticos de pravastatina se realizó como un objetivo secundario en el contexto de un estudio cuyo objetivo primario era farmacogenético (Niemi y cols., 2006a). La evaluación de las diferencias entre sexos se realizó en 16 voluntarios sanos (8 hombres y 8 mujeres homocigotos para el alelo silvestre del polimorfismo investigado) que recibieron una dosis única de 40 mg de pravastatina. Los valores de C_{\max} y $AUC_{0-\infty}$ de pravastatina fueron un 147% (IC95%: 12-281%) y un 142% (IC95%: 7-242%) más altos en las mujeres que en los hombres, respectivamente. Dado que el peso corporal de las mujeres era inferior al de los hombres Niemi y cols. (2006a) decidieron ajustar los valores de $AUC_{0-\infty}$ por el peso corporal total y el peso magro estandarizándolos para una persona de 70 kg de peso y constataron que aunque de menor magnitud (un 78% y 65% más altos en las mujeres, respectivamente) las diferencias seguían siendo estadísticamente significativas. El tamaño muestral de nuestro estudio fue prácticamente el doble que el suyo y observamos diferencias similares tanto en los parámetros cinéticos sin ajustar (pero de menor magnitud) como en los ajustados por el peso corporal total y por el peso estandarizado para una persona de 70 kg. Los autores no

ajustaron por la dosis recibida en mg por el kilo de peso corporal como hemos hecho nosotros y Almeida y cols. (2006) dando por válido su método de ajuste y proclamando la existencia de diferencias entre sexos independientes de las diferencias en el peso corporal.

El último estudio que ha evaluado las diferencias en los parámetros cinéticos entre hombres y mujeres es un estudio de bioequivalencia en el que participaron 24 voluntarios sanos menores de 40 años (11 mujeres y 13 hombres) de Barcelona a los que se administró por vía oral una dosis única de 40 mg de pravastatina (Almeida y cols., 2006). Aunque su objetivo primario era demostrar la bioequivalencia entre las formulaciones la existencia de diferencias entre sexos también fue investigada. Los valores medios de la C_{\max} y el AUC_{0-14h} de pravastatina sin ajustar por el peso corporal fueron un 45% y un 31% más altos en las mujeres que en los hombre, respectivamente. No obstante, tal y como ocurrió en nuestro estudio, la significación estadística de estas diferencias desapareció una vez que los parámetros cinéticos fueron ajustados por la dosis administrada por *kg* de peso corporal indicando que las diferencias entre sexos son debidas a la mayor cantidad de dosis por *kg* recibida por las mujeres dado su menor peso corporal.

5.2.2.- Diferencias entre genotipos

El objetivo principal de la presente Tesis fue determinar la contribución del polimorfismo genético en las enzimas metabolizadoras, transportadores y receptores nucleares a la variabilidad en los parámetros farmacocinéticos de lovastatina, simvastatina y pravastatina en nuestra población de 207 voluntarios sanos españoles. Para conseguir este objetivo hemos genotipado en todos ellos a 17 polimorfismos o SNPs ("*single nucleotide polymorphisms*") pertenecientes a 10 genes involucrados en los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación (ADME) de las estatinas lovastatina, simvastatina y pravastatina (véase **Tabla 3.4**, pág. 138).

La existencia de diferencias en las variables farmacocinéticas entre los sujetos portadores de los tres genotipos (homocigotos para el alelo mayoritario, heterocigotos y homocigotos para el alelo minoritario, "0", "1" y "2", respectivamente) de cada uno de los 15 SNPs (dos resultaron ser monomórficos) y su magnitud fue analizada con el tercer modelo lineal mixto de medidas repetidas (LMMR) (véase **Figura 3.7**, pág. 159 y el apartado 3.4.2.3, pág. 162). Dado que si incluíamos los 15 SNPs junto con las otras variables independientes (formulación, periodo, secuencia, en el caso de pravastatina y simvastatina, y además, ensayo,

en el caso de lovastatina) en el mismo modelo se sobrepasaba la capacidad de cálculo de SPSS 15.0, decidimos analizar el efecto de los SNPs en 15 modelos separados, uno por SNP, y aplicar la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. De los tres tipos de ajustes aplicados a las variables farmacocinéticas dependientes en el análisis de la existencia de diferencias entre sexos seleccionamos el ajuste por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal (dp) como el más adecuado. De esta forma las variables farmacocinéticas dependientes analizadas fueron seis ($C_{\text{max_dp}}$, $\text{AUC}_{\text{t_dp}}$ y Cl/F para la lactona y $\text{OHAc-}C_{\text{max_dp}}$, $\text{OHAc-AUC}_{\text{t_dp}}$ y MR para el hidróxiácido) en el caso de lovastatina y simvastatina y cuatro ($C_{\text{max_dp}}$, $\text{AUC}_{\text{t_dp}}$, Cl/F y $t_{1/2}$) en el de la pravastatina (véanse **Figuras 3.8**, pág. 161, **3.9**, pág. 163, y **3.10**, pág. 165).

La pregunta a la que dábamos respuesta con el tercer modelo LMMR era si existen diferencias en las variables farmacocinéticas, ajustadas por las demás variables independientes incluidas en el modelo, entre los sujetos portadores de los distintos genotipos ("0", "1" y "2") de un SNP y cuál era su magnitud. Sin embargo, de esta forma no podíamos analizar el efecto individual de cada SNPs ajustado por el efecto de los restantes 14 SNPs.

Para suplir esta deficiencia en nuestro análisis hemos utilizado a modelos de regresión lineal multivariante (RLM). Con los modelos de RLM hemos podido explorar la relación lineal entre las variables cuantitativas farmacocinéticas de las tres estatinas analizadas (91-PRA, 84-SIM y 3-LOVs) y varias covariables predictoras que incluían a los 15 polimorfismos, al sexo y al efecto ensayo en el caso de lovastatina. Además hemos podido identificar aquellas covariables que explican una parte considerable de la variabilidad de las variables farmacocinéticas ajustada por el efecto del resto de covariables retenidas en el modelo.

Para ganar en capacidad de ajuste por el efecto del resto de SNPs y/o otras covariables independientes hemos tenido que utilizar en los modelos de RLM como variable dependiente a la suma de los valores de las variables farmacocinéticas correspondientes al periodo 1 y 2 de cada voluntario renunciando a las medidas repetidas. Hemos considerado a estas nuevas variables farmacocinéticas "totales" (o " t ") resultantes de la suma de las medidas repetidas de cada voluntario como una estimación aproximada de la cantidad total de fármaco a la que el individuo ha estado expuesto durante todo el ensayo. Con la utilización de modelos de RLM conseguimos integrar en el mismo modelo a todos los polimorfismos evitando analizar su aportación de uno en uno en 15 modelos separados como hemos hecho

en el tercer modelo LMMR aunque a costa de renunciar a la estimación de la contribución a la variabilidad interindividual de los efectos formulación, periodo y secuencia.

Los genes cuyos polimorfismos hemos investigado se pueden agrupar según la función de las proteínas que codifican en tres grandes grupos: 1) enzimas metabolizadoras de fármacos, 2) transportadores de fármacos y 3) receptores nucleares. En la **Tabla 4.27** (pág. 270) se presentan en forma resumida los resultados del estudio farmacogenético para cada uno de los 15 polimorfismos analizados.

Los polimorfismos en genes de transportadores de fármacos son los que han demostrado un mayor impacto sobre los parámetros farmacocinéticos de las estatinas (Niemi, 2010). Hemos investigado a cuatro polimorfismos con efecto funcional conocido en dos genes de proteínas transportadoras de fármacos. Estos dos genes codifican a proteínas transportadoras de fármacos, uno de cada una de las dos grandes superfamilias de transportadores; el gen *SLCO1B1* que pertenece a de los transportadores de solutos ("SoLute Carrier" o *SLC*) y el gen *ABCB1* que pertenece a la de los transportadores con dominios de unión e hidrólisis de ATP ("ATP-Binding Cassette" o *ABC*).

El gen *SLCO1B1* es un transportador *SLC* de aniones orgánicos ("SoLute Carrier Organic anion transporter 1B1"), que codifica al polipéptido transportador de aniones orgánicos 1B1 ("Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1" o OATP1B1), se expresa casi exclusivamente en la membrana sinusoidal de los hepatocitos (Niemi, 2007) donde se encarga de la captación celular de diversos endo y xenobióticos (véase **Figura A3.1**, pág. A80). Entre sus sustratos se encuentran todas las estatinas a excepción de la lovastatina que ha demostrado ser sólo inhibidor (véase **Tabla 1.4**, pág. 40).

• ***SLCO1B1***

Las variantes alélicas del transportador de captación hepatocitaria, *SLCO1B1*, que hemos investigado son la *SLCO1B1**1b o rs2306283 (Ex5+29A>G, c.388A>G, p.N130D) y la *SLCO1B1**5 o rs4149056 (Ex6+40T>C, c.521T>C, p.V174A), identificadas en nuestro estudio como el SNP12 y el SNP13, respectivamente. Se trata de dos polimorfismos que tiene una repercusión funcional opuesta. Si el alelo *1b parece estar asociado a un aumento en la actividad transportadora (Mwinyi y cols., 2004; Maeda y cols., 2006), el alelo *5 causa una pérdida de actividad

(Kameyama y cols., 2005). Estas variantes alélicas han demostrado en numerosos estudios *in vivo* que repercuten sobre la exposición de muchas de las estatinas al igual que otros fármacos transportados por el transportador SLCO1B1 (Niemi y cols., 2007; Maeda y cols., 2008).

Tabla 5.1. Impacto del *SLCO1B15 sobre el AUC_t de las estatinas.**

c.512T>C (rs4149056, <i>SLCO1B1</i> *5, p.V174A)		
Estatina	↑ AUC _t en CC (*5/*5) vs TT (*1/*1)	Referencias*
Simvastatina ^a	221%	R1
	654% (IC95%: 246 – 1459)	Este estudio
Lovastatina ^a	371% (IC95%: 159 – 726)	Este estudio
Pitavastatina	173% (Rango: 162 – 101) ^b	R2
Atorvastatina	144%	R3
Pravastatina	90% (Rango: 57 – 130) ^b	R4
	121% (IC95%: -18 – +408) ^c	Este estudio
Rosuvastatina	87% (Rango: 62 – 117) ^b	R5
Fluvastatina	No diferencias	R6

* R1: Pasanen y cols. (2006); R2: Chung y cols. (2005), Ieiri y cols. (2007), Deng y cols. (2008); R3: Pasanen y cols. (2007); R4: Nishizato y cols. (2003), Niemi y cols. (2004) y (2006a), Ho y cols. (2007), Deng y cols. (2008); R5: Lee y cols. (2005b), Pasanen y cols. (2007), Choi y cols. (2008); R6: Niemi y cols. (2006a).

^a En el caso de simvastatina y lovastatina se presenta el impacto sobre el AUC_t de su hidroxilado.

^b Media ponderada [media ponderada = (n₁*media₁+n₂*media₂+...n_n*media_n) / (n₁+n₂+...n_n)].

^c P_c = 0.076 corregido para comparaciones múltiples.

El efecto del polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5, p.V174A, SNP13) sobre la cinética de las estatinas ha sido intensamente investigado (Niemi, 2010). Su impacto es máximo en el caso de la simvastatina; el AUC_t de su hidroxilado es 221% mayor en los individuos con genotipo c.521CC (*5/*5 asociado con pérdida de actividad del transportador) que en los con genotipo c.521TT (Pasanen y cols., 2006) (véase **Tabla 5.1**). Siguiendo un orden descendente, el AUC_t de pitavastatina es 173% (rango: 162-191%) mayor (Chung y cols., 2005; Ieiri y cols., 2007; Deng y cols., 2008), el de atorvastatina 144% mayor (Pasanen y cols., 2007), el de pravastatina 90% (rango: 57-130%) mayor (Nishizato y cols., 2003; Niemi y cols., 2004 y 2006a; Ho y cols., 2007; Deng y cols., 2008), y el de rosuvastatina es 87% (rango: 62-117%) mayor (Lee y cols., 2005b; Pasanen y cols., 2007; Choi y cols., 2008) en los individuos con genotipo c.521CC si lo comparamos con el de los individuos con genotipo c.521TT. El polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5, p.V174A, SNP13) no tiene efecto sobre la cinética de la fluvastatina (Niemi y cols., 2006a).

Lovastatina es la única estatina que en estudios *in vitro* no ha demostrado ser transportada por el SLCO1B1. Probablemente, por este motivo, el impacto del

polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5, p.V174A, SNP13) sobre su cinética no ha sido investigado hasta ahora. Nosotros hipotizamos que dada la gran similitud estructural con la simvastatina y su capacidad de inhibir competitivamente el transporte de sustratos por el *SLCO1B1* (Hsiang y cols., 1999; Sandhu y cols., 2005; Chen y cols., 2005a) el efecto de la pérdida de actividad inducida por el polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5, p.V174A, SNP13) tendría un efecto sobre el AUC_t de su hidroxiaácido similar al del de la simvastatina. Los resultados de nuestro estudio con el tercer modelo LMMR señalan que los valores del AUC_{t_dp} del hidroxiaácido de lovastatina son en los portadores heterocigotos c.521TC y homocigotos c.521CC de media un 117% (IC95%: 59-184) y un 371% (IC95%: 158-723) más altos que en los individuos con genotipo c.521TT, respectivamente (véase **Tabla 4.14**, pág. 221). En el modelo de RLM este polimorfismo explicó el 47% de la variabilidad interindividual en el $AUC_{t_dp_t}$ del hidroxiaácido de lovastatina (véase **Tabla 4.17**, pág. 238). El impacto de este polimorfismo sobre la C_{max_dp} del hidroxiaácido de lovastatina y sobre su cociente metabólico (MR) fue similar llegando a explicar el 29% y 25% de su variabilidad interindividual, respectivamente. Llama la atención que en el modelo de RLM el polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5, SNP13) se asoció a un aumento del $AUC_{t_dp_t}$ de la lactona de lovastatina explicando en 8% de su variabilidad interindividual. Sin embargo, no alcanzó la significación estadística en el tercer modelo LMMR aunque siguió la misma tendencia (véase **Figura 4.11**, pág. 208). El efecto sobre la cinética de la lactona de lovastatina es mucho menor que sobre su hidroxiaácido más hidrosoluble (véase **Tabla 1.2**, pág. 14) y por tanto su captación hepatocitaria dependiente en mayor medida de la actividad del *SLCO1B1*.

En el caso de la simvastatina nuestros resultados con el tercer modelo LMMR confirman el importante impacto del polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5, SNP13) sobre la cinética de su hidroxiaácido descrito previamente por Pasanen y cols. (2006) (véase **Tabla 5.1**). Los valores del AUC_{t_dp} del hidroxiaácido de simvastatina en los portadores heterocigotos c.521TC y homocigotos c.521CC fueron de media un 120% (IC95%: 38-218) y un 654% (IC95%: 246-1459) más altos que en los individuos con genotipo c.521TT, respectivamente (véase **Tabla 4.13**, pág. 216). En el modelo de RLM este polimorfismo explicó el 57% de la variabilidad interindividual en el $AUC_{t_dp_t}$ del hidroxiaácido de simvastatina (véase **Tabla 4.16**, pág. 234). El impacto de este polimorfismo sobre la $C_{max_dp_t}$ del hidroxiaácido de simvastatina y sobre su cociente metabólico (MR_t) fue similar llegando a explicar el 57% y 42% de su variabilidad interindividual, respectivamente. El impacto del polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5,

SNP13) sobre la cinética de la lactona de simvastatina no alcanzó la significación estadística.

Nuestros resultados también confirman el impacto del polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5, SNP13) sobre la cinética de pravastatina descrito previamente (Nishizato y cols., 2003; Niemi y cols., 2004 y 2006a; Ho y cols., 2007; Deng y cols., 2008) (véase **Tabla 5.1**). Los valores del AUC_{t_dp} de pravastatina en los portadores heterocigotos c.521TC y homocigotos c.521CC fueron de media un 109% (IC95%: 13-253) y un 121% (IC95%: -18-412) más altos que en los individuos con genotipo c.521TT, respectivamente con una significación estadística marginal después de la corrección para comparaciones múltiples ($P=0.076$) (véase **Tabla 4.12**, pág. 212). En el modelo de RLM este polimorfismo explicó el 41% de la variabilidad interindividual en el $AUC_{t_dp_t}$ de pravastatina (véase **Tabla 4.15**, pág. 230). El impacto de este polimorfismo sobre la $C_{max_dp_t}$ de pravastatina y sobre su cociente aclaramiento aparente (Cl/F_{dp_t}) fue similar llegando a explicar el 49% y 15% de su variabilidad interindividual, respectivamente.

Las diferencias en la magnitud del impacto del polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5, SNP13) en el transportador *SLCO1B1* sobre la cinética de las diferentes estatinas podría ser explicado, al menos en parte, por diferencias en la afinidad por el transportador o por la contribución de otros transportadores de captación localizados en la membrana sinusoidal de los hepatocitos. Por ejemplo, pravastatina, fluvastatina, y rosuvastatina son también sustrato de los transportadores *SLCO1B3* y *2B1*; atorvastatina y pitavastatina son transportados también por el *SLCO1B3* y *2B1*, respectivamente (véase **Tabla 1.4**, pág. 40). En cambio, simvastatina y lovastatina (según indican nuestros resultados) son captadas al interior de los hepatocitos exclusivamente por el *SLCO1B1*.

El efecto individual del polimorfismo c.388A>G (*SLCO1B1**1b, rs2306283, p.N130D, SNP12) en el gen *SLCO1B1* sobre la cinética de las estatinas ha sido menos investigado que del *SLCO1B1**5. Los estudios *in vitro* no han podido demostrar que se asocie a diferencias en la actividad transportadora intrínseca en líneas celulares transfectadas (Iwai y cols., 2004) o en el nivel de expresión proteica en hepatocitos humanos criopreservados (Ho y cols., 2006). Sin embargo, varios estudios *in vivo* sugieren que se asocia a un aumento de actividad transportadora. El *SLCO1B1**1b se ha asociado a un aumento del aclaramiento renal de torasemida (Vormfelde y cols., 2008) y a un descenso del AUC_t de

valsartán y temocapril (Maeda y cols., 2006). Los portadores heterocigotos (AG) y homocigotos (GG) del alelo **1b* presentaron un AUC_t de pravastatina un 25 a 35% y 65% menor que los individuos con el genotipo c.388AA, respectivamente (Mwinyi y cols., 2004; Maeda y cols., 2006). No obstante, este polimorfismo no parece afectar la cinética de rosuvastatina (Lee y cols., 2005b; Pasanen y cols., 2007; Fan y cols., 2008; Choi y cols., 2008). Su efecto sobre la cinética del resto de estatinas no ha sido investigado.

Según nuestros resultados procedentes del tercer modelo LMMR y del de RLM el polimorfismo c.388A>G (*SLCO1B1***1b*, rs2306283, p.N130D, SNP12) posee un impacto significativo sobre la cinética de la pravastatina confirmando los resultados de los estudios previos (Mwinyi y cols., 2004; Maeda y cols., 2006). El AUC_{t_dp} de pravastatina en los portadores heterocigotos (AG) y homocigotos (GG) del alelo **1b* fue de media un 33% (IC95%: 2-69) y un 68% (IC95%: 30-105) más bajo que los homocigotos AA del *SLCO1B1***1b* (rs2306283, p.N130D, SNP12), respectivamente (véase **Tabla 4.12**, pág. 212). Los portadores heterocigotos (AG) y homocigotos (GG) del alelo **1b* presentaron unos valores de C_{max_dp} de pravastatina de media un 33% (IC95%: 2-69) y un 63% (IC95%: 23-102) más bajos que los homocigotos AA, respectivamente. Su impacto sobre el aclaramiento aparente (Cl/F_dp) de pravastatina fue mayor presentando los portadores heterocigotos (AG) y homocigotos (GG) del alelo **1b* presentaron unos valores de Cl/F_dp de media un 51% (IC95%: 3-96) y un 215% (IC95%: 77-408) más altos que los homocigotos AA, respectivamente. En los modelos de RLM el alelo **1b* del polimorfismo c.388A>G (rs2306283, SNP12) se asoció un descenso de la C_{max_dp_t} y del AUC_{t_dp_t} y a un aumento del Cl/F_t de pravastatina explicando el 29%, el 29% y el 44% de su variabilidad interindividual, respectivamente (véase **Tabla 4.15**, pág. 230).

Nuestro es el primer estudio en investigar el impacto del polimorfismo c.388A>G (*SLCO1B1***1b*, rs2306283, p.N130D, SNP12) sobre la cinética de lovastatina y simvastatina. Nuestros resultados indican que este polimorfismo carece de un efecto significativo sobre los parámetros cinéticos de simvastatina. En el caso de la lovastatina el alelo **1b* (c.388A>G, rs2306283, SNP12) se asoció en los hombres a un descenso de la C_{max_dp_t} y del AUC_{t_dp_t} de su hidróxido explicando el 9% y el 7% de su variabilidad interindividual, respectivamente (véase **Tabla 4.17**, pág. 238). Este alelo se asoció también en las mujeres a un descenso de la C_{max_dp_t} del hidróxido de lovastatina explicando el 6% de su variabilidad interindividual. Debemos señalar que el impacto del polimorfismo c.388A>G (*SLCO1B1***1b*,

rs2306283, SNP12) en el gen *SLCO1B1* sobre los parámetros cinéticos de lovastatina observado con los modelos de RLM fue nulo con el tercer modelo LMMR por lo que cabe la posibilidad de que en ambos casos se trate de falsos positivos, haciendo imprescindible la necesidad de su confirmación en posteriores estudios de replicación.

El polimorfismo c.388A>G (*SLCO1B1**1*b*, rs2306283, p.N130D, SNP12) se localiza en el segundo bucle extracelular del transportador *SLCO1B1* que forma parte de uno de los dos sitios de unión de sustratos (Tamai y cols., 2001; Noé y cols., 2007). Su impacto sobre la cinética de pravastatina y la ausencia de efecto sobre la de lovastatina y simvastatina indicaría un efecto sustrato dependiente. En un estudio reciente Lubomirov y cols. (2010) observaron que el mismo polimorfismo no tiene impacto alguno sobre la cinética de lopinavir coformulado con ritonavir, sin embargo, otro polimorfismo, el *SLCO1B1**4 (rs11045819, c.463C>A, p.P155T), localizado también en el segundo bucle extracelular, se asoció a un aumento del aclaramiento aparente de lopinavir por aumento de la actividad transportadora reproduciendo el fenotipo cinético del *SLCO1B1**1*b* observado con pravastatina. Es posible que al igual que con lopinavir el polimorfismo que se asocie de forma sustrato dependiente con un aumento de actividad transportadora de lovastatina y simvastatina sea el alelo *SLCO1B1**4 y no el *1*b*. Esta hipótesis merece la pena ser testada en un nuevo estudio dado que el *SLCO1B1* es el único transportador encargado de la captación intrahepatocitaria de lovastatina y simvastatina.

• ***ABCB1***

El gen *ABCB1* codifica a la glicoproteína-P (P-gp), también, conocida como MDR1, presente en la membrana apical de los enterocitos y células tubulares renales, la membrana canalicular de los hepatocitos y en la barrera hematoencefálica, los plexos coroideos, placenta y los linfocitos de sangre periférica (Zhou y cols., 2008) facilitando la excreción al exterior celular de diversos endo y xenobióticos (véase **Figura A3.1**, pág. A80). Entre sus sustratos destacan las estatinas lovastatina, simvastatina, pravastatina, investigadas en nuestro estudio, cerivastatina, pitavastatina y rosuvastatina (véase **Tabla 1.4**, pág. 40).

Hedman y cols. (2006) analizaron el efecto de dos polimorfismos el c.2677 G>T/A (rs2032582) y el c.3435C>T (rs1045642) en el gen *ABCB1* sobre los parámetros cinéticos en 20 niños de edades comprendidas entre 5 y 16 años con hipercolesterolemia familiar tratados con pravastatina 10mg diarios durante 2 meses pero no encontraron diferencias estadísticamente significativas. En un

estudio posterior Keskitalo y cols. (2009b) tampoco detectaron diferencias significativas en los parámetros farmacocinéticos de lovastatina, pravastatina, fluvastatina y rosuvastatina en función de los tres polimorfismos c.1236C>T (rs1128503), c.2677 G>T/A (rs2032582) y c.3435C>T (rs1045642) en el gen *ABCB1* investigados o de los haplotipos formados por ellos en 20 voluntarios sanos finlandeses que recibieron en un diseño cruzado una dosis única de 20 mg de cada una de las cuatro estatinas.

Los polimorfismos en el gen *ABCB1* que hemos investigado son el rs1045642 (Ex27-55C>T), también conocido como c.3435C>T, y el rs2235048 (IVS27+80C>T), identificados en nuestro estudio como SNP8 y SNP7, respectivamente. En el primer caso se trata de un SNP exónico que, sin embargo, no produce cambio en la secuencia proteica (p.I1145I), el segundo polimorfismo investigado, en cambio, es intrónico y entre ambos existe un elevado desequilibrio de ligamiento ($R^2=0.98$) (Soranzo y cols., 2004) y ambos se han asociado a un descenso en la actividad transportadora (Soranzo y cols., 2004; Colombo y cols., 2005). Un estudio reciente ha desvelado que esta pérdida de actividad asociada al polimorfismo c.3435C>T es debida al cambio en el codón habitual utilizado para codificar la isoleucina 1145 por otro más inusual (Kimchi-Sarfaty y cols., 2007). La utilización de un ARN de transferencia menos frecuentemente usado para transcribir la misma isoleucina provocaría un retraso en la translación con la consiguiente alteración en el plegamiento cotranslacional del péptido nascente. La alteración en la estructura tridimensional de la proteína alteraría su inserción en la membrana plasmática y como consecuencia su actividad transportadora. Existe la creencia de que el efecto funcional de este polimorfismo sería más pronunciado en células con un elevada síntesis proteica como, por ejemplo, las del epitelio intestinal o los linfocitos de sangre periférica (Kimchi-Sarfaty y cols., 2007).

Según nuestros resultados procedentes del tercer modelo LMMR y del de RLM, el c.3435C>T (rs1045642, SNP8) carece de impacto significativo sobre la cinética de la pravastatina confirmando los resultados de los estudios previos (Hedman y cols., 2006; Keskitalo y cols., 2009b). En el caso de la simvastatina este polimorfismo fue retenido en el modelo de RLM de la $C_{\max_dp_t}$ del hidroxiácido (véase **Tabla 4.16**, pág. 234). De este modo, el alelo T (c.3435C>T, rs1045642, SNP8) se asoció a un aumento de la $C_{\max_dp_t}$ del hidroxiácido de simvastatina explicando el 5% de su variabilidad interindividual. En el caso de la lovastatina el alelo T (c.3435C>T, rs1045642, SNP8) se asoció en las mujeres a un aumento sólo de la $C_{\max_dp_t}$ y del $AUC_{t_dp_t}$ del hidroxiácido de lovastatina explicando el 10% y el 3% de su

variabilidad interindividual, respectivamente (véase **Tabla 4.17**, pág. 238). Debemos señalar que el impacto del polimorfismo c.3435C>T (rs1045642, SNP8) en el gen *ABCB1* sobre los parámetros cinéticos de lovastatina y simvastatina observado con los modelos de RLM fue nulo con el tercer modelo LMMR por lo que, teniendo en cuenta la ausencia de diferencias en un estudio reciente (Keskitalo y cols., 2009b), cabe la posibilidad de que en ambos casos se trate de falsos positivos.

Nuestro estudio farmacogenético es el primero en investigar el impacto del polimorfismo IVS27+80C>T (rs2235048, SNP7) en el mismo gen sobre los parámetros de las estatinas. Según nuestros resultados procedentes del tercer modelo LMMR y del de RLM el polimorfismo IVS27+80C>T (rs2235048, SNP7) carece de impacto significativo sobre la cinética de lovastatina, simvastatina o pravastatina.

• **CYP3A4 y CYP3A5**

Las enzimas CYP3A4 y CYP3A5 son las responsables de catalizar el 80% del metabolismo oxidativo de las lactonas y de los hidroxiácidos de lovastatina y simvastatina (Christians y cols., 1998; Vyas y cols., 1990; Prueksaritanont y cols., 1997 y 2003) (véanse **Figura 1.6** y **1.7**, pág. 22 y 23). Su papel en la formación de los metabolitos oxidativos de la pravastatina es también destacado (Jacobsen y cols., 1999a). Aunque la oxidación sea una vía metabólica minoritaria en el metabolismo de esta estatina (véase **Figura 1.8**, pág. 24) existen además pruebas indirectas que sugieren la participación en ella de otras enzimas como la CYP1A2 (Soucek y cols., 1992; Christians y cols., 1998).

La CYP3A4 y la CYP3A5 se expresan de forma constitutiva en hígado y en intestino delgado siendo las isoformas de citocromo P450 más abundantes en estos órganos (Wrighton y cols., 2000). Según algunas estimaciones intervienen en el metabolismo de más del 60% de los fármacos de uso humano desempeñando un papel clave en el metabolismo de primer paso hepático e intestinal (Williams y cols., 2008).

La expresión y la actividad enzimática de la enzima CYP3A4 se caracteriza por presentar una gran variabilidad interindividual, no obstante, los polimorfismos genéticos con efecto funcional descritos poseen unas frecuencias alélicas muy bajas incapaces de explicar la variabilidad funcional observada (Wojnowski y cols., 2004). Probablemente, este ha sido el motivo por el que hasta la fecha ningún estudio

haya investigado el efecto sobre la cinética de las estatinas de los polimorfismos genéticos en este gen. En nuestro estudio hemos investigado a dos de los polimorfismos del gen *CYP3A4* con efecto funcional conocido, las variantes alélicas *CYP3A4*17* (SNP17, rs4987161, T>C, p.F189S) y *CYP3A4*18* (SNP16, rs28371759, T>C, p.L293P), asociadas a pérdida y aumento de actividad enzimática, respectivamente (Dai y cols., 2001; Lee y cols., 2005a; Kang y cols., 2009). Sin embargo, su efecto sobre los parámetros farmacocinéticos de las estatinas no pudo ser evaluado al resultar ambos monomórficos en nuestra población de estudio.

El único polimorfismo del gen *CYP3A5* que hemos investigado es el alelo *CYP3A5*3* (g.6986A>G, rs776746), identificado en nuestro estudio como el SNP10. Este polimorfismo se localiza en el intrón 3 y genera un sitio críptico de *splicing* alternativo y un exón 3B que contiene un codón de parada prematuro. La proteína truncada a la que da lugar este transcrito alternativo contiene solo los primeros 109 aminoácidos. Dado que carece de dominio catalítico la actividad metabolizadora de la enzima *CYP3A5* está ausente en los portadores homocigotos (**3/*3*) de esta variante alélica (Kuehl y cols., 2001).

Hasta la fecha sólo un estudio ha investigado el impacto de este polimorfismo sobre la cinética de una de las siete estatinas. Se trata de un estudio realizado en 22 voluntarios sanos varones coreanos que recibieron una dosis única de simvastatina de 20 mg (Kim y cols., 2007). De una población inicial de 130 individuos genotipados para este polimorfismo fueron seleccionados a 10, 8 y 4 sujetos portadores de los genotipos **3/*3*, **1/*3* y **1/*1*, respectivamente, para participar en el estudio cinético, asegurando de esta forma un poder estadístico suficiente. Los individuos con genotipo **3/*3* (GG que no expresan *CYP3A5*) tenían un AUC de lactona de simvastatina un 231% mayor y un aclaramiento aparente (Cl/F) un 72% inferior que los homocigotos para el alelo funcional **1/*1* (AA que expresan *CYP3A5* activa). No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos respecto a la C_{\max} de la lactona ni la vida media de eliminación. La presencia del alelo **3* en el modelo de regresión con el resto de covariables demográficas explicaba el 30% y el 45% de la variabilidad en el AUC y el Cl/F de la lactona de simvastatina, respectivamente.

En nuestro caso el estudio farmacogenético se realizó de forma retrospectiva aprovechando los datos cinéticos de los estudios de bioequivalencia con estatinas disponibles por lo que el número de sujetos portadores de cada uno de los tres genotipos de la variante alélica *CYP3A5*3* fue más reducido reflejando las

frecuencias de aparición en la población caucasiana. El número de individuos portadores de los genotipos $*3/*3$, $*1/*3$ y $*1/*1$ en el caso de la lovastatina, fueron 88, 11, 0 y en el caso de la simvastatina y la pravastatina 30, 5, 0 y 34, 1 y 0, respectivamente. Con estos números no se detectó ninguna diferencia estadísticamente significativa para ninguno de los parámetros cinéticos de las tres estatinas investigadas. Sin embargo, en el caso de la lactona de simvastatina pudimos observar la misma tendencia descrita en el estudio de Kim y cols., (2007) (Kim y cols., 2007) con valores de C_{\max} y AUC_t más altos y de Cl/F más bajos en los portadores homocigotos $*3/*3$ ($n=30$) respecto a los heterocigotos $*1/*3$ ($n=5$) (véase **Figura A2.5, A2.6 y A2.7**, pág. A39, A40 y A41, respectivamente).

• **CYP1A2**

La CYP1A2 se expresa exclusivamente a nivel hepático representando el 15% de los citocromos P450 en este órgano (Shimada y cols., 1994; Gunes y cols., 2008) y contribuye a metabolizar al menos el 10% de los fármacos utilizados en clínica (Williams y cols., 2008). El único polimorfismo en este gen que investigamos fue el alelo *CYP1A2*1F* (-163C>A, rs762551), identificado en nuestro estudio como el SNP14. Se trata de una variante alélica localizada en el promotor del gen asociada a una mayor inducibilidad (Sachse y cols., 1999; Han y cols., 2002) de la enzima dando lugar a un fenotipo metabolizador ultra rápido manifestado como un aumento del metabolismo de cafeína (Sachse y cols., 1999, Chida y cols., 1999; Ghotbi y cols., 2007) y olanzapina (Laika y cols., 2010) en los portadores del alelo A (**1F*) respecto al de referencia C (**1A*).

El impacto sobre la cinética de las estatinas de este polimorfismo en el gen *CYP1A2* no ha sido investigado, por lo tanto, nuestro estudio es el primero en proporcionar datos al respecto. Según nuestros resultados procedentes del tercer modelo LMMR y del de RLM el *CYP1A2*1F* carece de impacto significativo sobre la cinética de lovastatina y pravastatina. En el caso de la simvastatina fue retenido en el modelo de RLM de la $C_{\max_dp_t}$ del hidróxido pero sólo en hombres (véase **Tabla 4.16**, pág. 234). De este modo, los hombres portadores homocigotos del fenotipo metabolizador ultra rápido (**1F/*1F* o AA, $n=5$) presentaban una $C_{\max_dp_t}$ más baja que los portadores del fenotipo metabolizador rápido (**1A/*1F* o CA, $n=10$) y estos a su vez más baja que los portadores del fenotipo metabolizador normal (**1A/*1A* o CC, $n=3$). La variabilidad interindividual de la $C_{\max_dp_t}$ del hidróxido de simvastatina explicada en los hombres fue del 6% (véase **Tabla 4.16**, pág. 234). Dado que el impacto de este polimorfismo sobre el resto de parámetros cinéticos de la simvastatina fue nulo al igual que no se detectaron diferencias en la

C_{max}_dp_t del hidróxido con el tercer modelo LMMR es posible que se trate de un falso positivo por lo que exige su confirmación en estudios posteriores de replicación.

Las esterasas, concretamente las carboxilesterasas (CESs) (Tang y cols., 1995; Fleming y cols., 2005) y las paraoxonasas (PONs) (Billecke y cols., 2000; Draganov y cols., 2000 y 2005), son las enzimas encargadas de catalizar la hidrólisis enzimática de las lactonas para dar lugar a los correspondientes hidroxiácidos (véase **Figura 1.5**, pág. 19), tanto en las estatinas administradas en forma de lactona, como la lovastatina y simvastatina, como en el caso de las administradas en forma de hidroxiácido activo, como la pravastatina. Sin embargo, hasta la fecha el impacto de sus polimorfismos en la cinética de las estatinas no ha sido investigado.

- **CES2**

En humanos existen 6 genes de CESs que están localizados en el cromosoma 16 formando dos grupos o *clusters*: el *CES4-CES1-CES7* y el *CES2-CES3-CES6* (Holmes y cols., 2008). El gen *CES1* codifica la isoforma mayoritaria en el hígado, aunque se expresa, también, en epitelio pulmonar y otros tejidos. El gen *CES2* codifica, a su vez, la isoforma mayoritaria a nivel intestinal con expresión, también, en hígado, riñón, corazón y músculo estriado. El gen *CES3* se expresa en hígado, colon e intestino delgado. Hasta la fecha los productos de los genes *CES4*, *CES6* y *CES7* no han sido suficientemente caracterizados a nivel proteico.

Nuestro estudio es el único hasta la fecha que ha investigado el impacto sobre la cinética de las estatinas del polimorfismo rs2241409 (IVS10-108C>T), identificado en nuestro estudio como el SNP15, localizado en el intrón 10 del gen *CES2*. En la literatura existen resultados conflictivos respecto a su asociación con la pérdida de actividad enzimática (Charasson y cols., 2004; Kubo y cols., 2005) pero hay cierto consenso en que se asocia a un descenso en la expresión a nivel de ARNm (Marsh y cols., 2004; Wu y cols., 2004). Recientemente se le ha relacionado con una variante de *splicing* alternativo (*CES2*Δ⁴⁵⁸⁻⁴⁷³) asociada con pérdida de actividad catalítica (Schiel y cols., 2007). Los resultados de nuestro análisis farmacogenético señalan que este polimorfismo en el gen *CES2* no se asocia a diferencias en los parámetros farmacocinéticos de ninguna de las tres estatinas investigadas. Esta falta de impacto sobre la cinética de las estatinas podría deberse a que otra carboxilesterasa como la *CES1*, la isoforma mayoritaria en el hígado o las paraoxonasas podrían suplir la pérdida de actividad de la *CES2*.

- **PON3**

En humanos la familia de las *PONs* está compuesta por tres miembros: *PON1*, *PON2* y *PON3*; localizados en el cromosoma 7 formando un único *cluster*. Las *PONs* poseen una actividad lactonasa, es decir, hidrolizan lactonas, aunque con diferente afinidad por los sustratos (Draganov, 2007). La *PON1* es sintetizada en el hígado y gran parte de ella es secretada a la sangre donde circula unida a la fracción HDL. La *PON3*, al igual que *PON1*, se sintetiza en el hígado, aunque sólo 5% de ella es secretado al torrente circulatorio, también, se expresa a lo largo de todo el tracto gastrointestinal sobre todo en esófago y estómago. Se considera que la *PON3* ejerce su papel fisiológico a nivel hepático y que su presencia en suero unida a las HDL es más bien una situación patológica (Draganov, 2007). La *PON2* no se detecta en suero pero se expresa en cerebro, hígado, riñón y testículos.

Nuestro estudio es el único hasta la fecha que ha investigado el impacto sobre la cinética de las estatinas del polimorfismo rs10487132 (IVS2-784 A>G), identificado en nuestro estudio como el SNP9, localizado en el intrón 2 del gen *PON3*. Este SNP se ha asociado a un elevado riesgo de desarrollar la forma esporádica de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) (Saeed y cols., 2006; Cronin y cols., 2007). Aunque su efecto funcional no se ha investigado en estudios funcionales *in vitro*, se presupone que induce una pérdida de actividad metabolizadora paraoxonasa y como consecuencia una menor detoxificación de pesticidas organofosforados haciendo las motoneuronas más susceptibles a estos tóxicos ambientales. En apoyo de esta hipótesis un estudio reciente ha demostrado la existencia de una interacción genético-ambiental en la predisposición a la ELA esporádica (Morahan y cols., 2007). Un meta-análisis reciente no ha podido confirmar la asociación de este polimorfismo con el riesgo de ELA (Wills y cols., 2009), sin embargo, se ha asociado con variaciones en la actividad metabólica de la *PON1* (Sanghera y cols., 2008).

Los resultados de nuestro análisis farmacogenético señalan que este polimorfismo en el gen *PON3* no se asocia a diferencias en los parámetros farmacocinéticos de pravastatina, aunque posee cierto impacto sobre algunos de los parámetros cinéticos de lovastatina (véase **Tabla 4.17**, pág. 238) y simvastatina (véase **Tabla 4.16**, pág. 234). En el caso de la lovastatina el alelo G del rs10487132 (IVS2-784 A>G, SNP9) que induce cierta disminución de la actividad de la *PON3* se asoció a un menor aclaramiento aparente (Cl/F_{dp_t}) llegando a explicar el 5% de su variabilidad interindividual. El impacto de este polimorfismo sobre varios

parámetros cinéticos de simvastatina fue significativo sólo en los hombres. El alelo G del rs10487132 (IVS2-784 A>G, SNP9) se asoció en los hombres a un aumento del AUC_tdp_t de la lactona de simvastatina, y a un aumento de la C_{max}dp_t y del AUC_tdp_t del hidroxiaácido de simvastatina llegando a explicar respectivamente el 27%, 8% y el 14% de su variabilidad interindividual. No obstante, hay que señalar que dado que no se detectaron diferencias entre los portadores de los diferentes genotipos de este polimorfismo con el tercer modelo LMMR en ninguno de los parámetros cinéticos de lovastatina o simvastatina es posible que se trate de falsos positivos que exigen una confirmación.

- **NR1I2 y NR1I3**

El tercer grupo de genes implicados en los procesos ADME de las estatinas lo constituyen los receptores nucleares. Sus dos miembros más importantes son el gen *NR1I2* y el *NR1I3*. Al *NR1I2* se le conoce también como receptor X de pregnano o PXR ("*pregnane X receptor*"), receptor de esteroides y de xenobióticos o SXR ("*steroid and xenobiotic receptor*") o receptor activado por pregnano o PAR ("*pregnane-activated receptor*") (Zhang y cols., 2008). El receptor nuclear *NR1I3* recibe también el nombre de receptor constitutivo de androstano o CAR ("*constitutive androstane receptor*") (Lamba, 2008b). La unión de un ligando hace que estos receptores nucleares sufran un cambio conformacional seguido por una heterodimerización con el receptor nuclear RXR ("*retinoid X receptor*") y translocación al núcleo donde se unen a los elementos de respuesta al PXR ("*PXR response elements*" o *PXRE*) localizados en los promotores de sus genes diana aumentando su actividad transcriptional. La lista de sus ligandos endo y xenobióticos es muy amplia, destacando entre estos últimos a las estatinas (Willrich y cols., 2009). Sus genes diana son también muy variados abarcando a las enzimas metabolizadoras de fármacos de fase I (CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5 y CYP3A7), las de fase II (glutación-S-transferasas, GSTs; UDP-glucuroniltransferasas, UGTs y sulfotransferasas, SULTs) y varias proteínas transportadoras de fármacos (ABCB1, ABCC2, ABCC4 y SLCO1A2) (Lamba, 2008b; Zhang y cols., 2008; Meyer y cols., 2009). Un estudio reciente ha demostrado que PXR y CAR regulan la expresión de la carboxilesterasa CES2 de ratón (Xu y cols., 2009) y que PXR regula la expresión de CES 1 y CES2 en hepatocitos humanos (Zhu y cols., 2000). Los genes *NR1I2* y *NR1I3* se expresan fundamentalmente a nivel hepático e intestinal, aunque se han detectado también a nivel de los linfocitos de sangre periférica (Lamba, 2008b; Zhang y cols., 2008).

Nuestro es el primer estudio farmacogenético que ha investigado el impacto de polimorfismos en los genes *NR1I2* y *NR1I3* sobre los parámetros cinéticos de las estatinas.

Los tres polimorfismos asociados a cambios funcionales en el gen *NR1I2* que hemos investigado son el rs3814055 (Ex1+705C>T), rs3814057 (Ex10-79A>C) y el rs3814058 (Ex10-42T>C), también conocidos como -25385C>T, c.11156A>C y c.11193T>C e identificados en nuestro estudio como SNP4, SNP5 y SNP6, respectivamente.

En el caso del polimorfismo -25385C>T (rs3814055, Ex1+705C>T, SNP4) se trata de un SNP localizado en el promotor del gen en un sitio putativo de unión de los factores de transcripción NF-κB y el ISFG-3 (Lamba y cols., 2008a; Zhang y cols., 2008) que en estudios *in vitro* ha demostrado estar asociado a una mayor transactivación y un mayor aumento en la actividad CYP3A (TT>CC) inducida por rifampicina cuantificada *in vivo* mediante el test del aliento de eritromicina ("erythromycin breath test" o ERMBT) (Zhang y cols., 2001; Lamba y cols., 2005). Nuestros resultados señalan que este polimorfismo no se asocia a diferencias significativas en la cinética de lovastatina ni de simvastatina. Sin embargo, en las mujeres el alelo T (rs3814055 C>T, SNP4) se asoció a un aumento de la $C_{max_dp_t}$ y del $AUC_{t_dp_t}$, y a un descenso del aclaramiento aparente (Cl/F_{dp_t}) de pravastatina explicando el 7%, 6% y el 11% de su variabilidad interindividual, respectivamente (véase **Tabla 4.15**, pág. 230)

Los otros dos polimorfismos, el c.11156A>C (rs3814057, Ex10-79A>C, SNP5) y el c.11193T>C (rs3814058, Ex10-42T>C, SNP6), localizados en la región no codante (3'-UTR) del gen *NR1I2* que hemos investigado, se han asociado a un descenso en la transactivación de PXR y a una reducción en la expresión proteica *in vivo* del transportador ABCB1 (SNP5 AA>AC+CC y SNP6 TT>TC+CC) a nivel intestinal (Zhang y cols., 2001; Lamba y cols., 2005). A diferencia del SNP4 su impacto sobre la cinética de pravastatina no resultó significativo, en cambio se asociaron a diferencias en parámetros cinéticos de lovastatina y simvastatina pero sólo en hombres. El polimorfismo c.11156A>C (rs3814057, Ex10-79A>C, SNP5) se asoció en hombres a un aumento de la $C_{max_dp_t}$ del hidroxiácido de lovastatina y a un descenso del cociente metabólicos (MR_t) de simvastatina explicando en ambos casos el 9% de su variabilidad interindividual (véase **Tabla 4.17** y **4.16**, pág. 238 y 234, respectivamente). En cambio, el polimorfismo c.11193T>C (rs3814058, Ex10-42T>C, SNP6) se asoció sólo en hombres a un aumento del $AUC_{t_dp_t}$ del

hidroxiácido de lovastatina explicando en 8% de su variabilidad interindividual (véase **Tabla 4.17**, pág. 238).

En el caso del gen *NR1I3*, los tres polimorfismos que hemos investigado, también han sido tres; el rs4073054 (IVS8+116T>G), rs2307424 (Ex5-9C>T) y el rs2502815 (IVS3-99C>T) identificados en nuestro estudio como SNP1, SNP2 y SNP3, respectivamente. Sin embargo, en este caso los hemos seleccionado de entre los tagSNPs ("tagging" SNPs) con capacidad de representar la máxima variabilidad genética y que puedan ser analizados con la técnica de genotipado TaqMan®. La razón principal fue la ausencia de polimorfismos con repercusión funcional conocida descritos en caucásicos (Lamba, 2008b). Hasta la fecha los dos únicos polimorfismos asociados *in vitro* con un descenso en la transactivación mediada por CAR son el c.737A>G (p.H246R) y c.923T>C (p.L308P) descritos sólo en japoneses y con frecuencias alélicas muy bajas (0.30% y 0.15%, respectivamente) (Ikeda y cols., 2005).

Los resultados de nuestro estudio demuestran que los polimorfismos rs4073054 (IVS8+116T>G, SNP1) y rs2502815 (IVS3-99C>T, SNP3) no se asocian con diferencias en ninguno de los parámetros farmacocinéticos de las tres estatinas investigadas. En cambio, el rs2307424 (Ex5-9C>T, SNP2) se asoció a un descenso en el AUC_{dp_t} de pravastatina explicando el 3.6% de su variabilidad interindividual (véase **Tabla 4.15**, pág. 230).

Dado que el impacto de algunos de los polimorfismos de receptores nucleares investigados sobre el resto de parámetros cinéticos de las estatinas fue nulo con el tercer modelo LMMR cabe la posibilidad de que se trate de un falso positivo.

• **GNB3**

El último gen que hemos investigado no se engloba en ninguno de los tres grupos anteriores ya que es el *GNB3* que codifica a la subunidad $\beta 3$ de las proteínas G. La función de las proteínas G consiste en actuar de transductores de señales entre los receptores celulares de 7 dominios transmembrana, acoplados a ellas, y una plétora de efectores, como la adenilil ciclasa, la fosfolipasa C o la fosfatidil-inositol 3 kinasa entre otros, que a través de segundos mensajeros modulan la respuesta celular (McIntire, 2009). El gen *GNB3* tiene una expresión ubicua y en su secuencia se han identificado varios polimorfismos. El polimorfismo que hemos decidido investigar es el rs5443 (Ex10-92C>T, p.S275S), conocido también como el c.825C>T, e identificado en nuestro estudio como SNP11. Este polimorfismo se

localiza en el exón 10 y se ha asociado a una variante de *splicing* alternativo más corta, denominada G β 3-s, en la que se han perdido 123 nucleótidos del exón 9 y que codifica a una subunidad β 3 41 aminoácidos más corta. Los aminoácidos perdidos se localizan en las mitades distal y proximal de las palas 3 y 4, respectivamente, por lo que su estructura tridimensional pasa de ser una hélice con 7 palas a ser una hélice con 6 (Siffert, 2000). En un principio no estaba claro cómo un polimorfismo en el exón 10 puede desencadenar un *splicing* alternativo del exón 9 pero posteriormente se vio que el c.825C>T se encontraba en estrecho desequilibrio de ligamiento con otros polimorfismos entre los cuales podría estar el responsable del *splicing* alternativo del exón 9. Estudios posteriores han encontrado que c.825C>T en ocasiones está asociado a la existencia de otra variante de *splicing* alternativo, denominada G β 3-s2 por su parecido con la anterior (Rosskopf y cols., 2003). Sin embargo, en este caso el *splicing* alternativo se produce a nivel del exón 10 con la pérdida de 129 nucleótidos de modo que su estructura tridimensional, al igual que en el caso anterior, pasa de ser una hélice con 7 palas a ser una hélice con 6, por la pérdida de 43 aminoácidos de parte de las palas 5 y 6 (Rosskopf y cols., 2003). Los estudios realizados *in vitro* y *ex vivo* en humanos demuestran que el alelo 825T y/o los polimorfismos ligados a él facilitan la generación de variantes de *splicing* alternativo que poseen una actividad biológica aumentada que en última instancia se traduce en un incremento de la transducción de señales mediada por las proteínas G (Siffert, 2005).

Las proteínas G juegan un papel clave en la transducción de señales intracelulares por lo que no es de extrañar que el polimorfismo c.825C>T tenga un impacto en varios procesos patológicos y en la respuesta a diversos fármacos. En varios estudios realizados en caucasianos el alelo c.825T ha demostrado estar asociado a un elevado riesgo de padecer obesidad (Siffert y cols., 1999a; Siffert y cols., 1999b; Gutersohn y cols., 2000), hipertensión esencial (Schunkert y cols., 1998; Hengstenberg y cols., 2001), cardiopatía isquémica (Naber y cols., 2000; von Beckerath y cols., 2003), ictus (Morrison y cols., 2001; Wascher y cols., 2003), depresión (Zill y cols., 2000; Bondy y cols., 2002) o hipotensión ortostática (Tabara y cols., 2002),

El alelo c.825T se ha asociado, también, a la respuesta a diuréticos tiazídicos (Turner y cols., 2001), antidepresivos (Zill y cols., 2000), sildenafil (Sperling y cols., 2003), clonidina (Nürnberg y cols., 2003), antagonistas de los receptores de angiotensina II (Mitchell y cols., 2006), a los triptanes (Schurks y cols., 2007), a la toxicidad por olanzapina (Ujike y cols., 2008), y a clozapina (Kohlrausch y cols.,

2008), a la respuesta a sibutramina (Hsiao y cols., 2009), a la respuesta a la vacuna contra el virus de la hepatitis B (Lindemann y cols., 2002), a una mayor proporción de respuestas virológicas sostenidas en los pacientes con hepatitis C tratados con interferón y ribavirina (Sarrazin y cols., 2005; Ahlenstiel y cols., 2007) y a una menor supervivencia del injerto en trasplantados renales (Beige y cols., 1999). Sin embargo, hasta la fecha su impacto sobre la cinética de las estatinas no ha sido investigado.

El mecanismo exacto por el que el polimorfismo c.825C>T podría alterar la disposición de diversos fármacos se desconoce actualmente, no obstante, se considera que la colecistoquinina podría estar implicada. La colecistoquinina (CCK) es un neuropéptido producido por las células neuroendocrinas del duodeno en respuesta a la presencia en él de aminoácidos y de ácidos grasos (Dufresne y cols., 2006). Su función es retrasar el vaciado gástrico (Beglinger, 1994), inhibir la secreción gástrica y estimular el vaciado de la vesícula biliar y la liberación de enzimas pancreáticas (Rehfeld, 2004). Participa junto con la gastrina y la secretina en la regulación endocrina de la digestión y juega un papel importante en la motilidad del tracto gastrointestinal superior. Las evidencias actuales la involucran en la fisiopatología de la dispepsia funcional o el síndrome del intestino irritable. Se cree que en estos trastornos existe una hipersensibilidad visceral en el tracto gastrointestinal a la acción de la CCK (van Lelyveld y cols., 2008). La CCK ejerce sus acciones a nivel intestinal a través de su unión a los receptores de CCK tipo 1 (CCK-1) acoplados a proteínas G (Dufresne y cols., 2006), por lo que la misma cantidad de CCK produciría unos efectos “exagerados” en los portadores del alelo 825T (CT o TT) respecto a los no portadores (CC) como consecuencia del incremento de la transducción de señales mediada por las proteínas G. Los portadores del alelo 825T tendrían un vaciado gástrico más lento y una menor secreción gástrica que sin duda podrían tener una repercusión en la disolución y absorción de los fármacos que alteraría su perfil farmacocinético.

Los hallazgos de nuestro estudio farmacogenéticos sugieren que el polimorfismo c.825C>T (rs5443, SNP11) podría tener cierta repercusión sobre la cinética de las estatinas lovastatina, simvastatina y pravastatina. El alelo T del c.825C>T (rs5443, SNP11) se asoció a un descenso en el AUC_tdp_t de la lactona y del hidroxiaácido de lovastatina además de a un aumento en su cociente metabólico (MR_t) explicando el 7%, 3% y 3% de la variabilidad interindividual de estos parámetros cinéticos, respectivamente (véase **Tabla 4.17**, pág. 238). El alelo T se asoció, también, a un descenso en el AUC_tdp_t del hidroxiaácido de simvastatina y explicó el 5% de su

variabilidad interindividual (véase **Tabla 4.16**, pág. 234). En contra, el alelo T se asoció a un aumento en el AUC_{dp_t} de pravastatina explicando el 6% de su variabilidad interindividual (véase **Tabla 4.15**, pág. 230). Esta diferencia en la dirección del impacto del polimorfismo c.825C>T (rs5443, SNP11) sobre la biodisposición de la pravastatina respecto a lovastatina y simvastatina podría tener la siguiente explicación. La pravastatina es, junto a la rosuvastatina, la estatina más hidrosoluble y la que menos se metaboliza. De hecho su metabolismo de primer paso comienza ya antes de la absorción. Sus metabolitos 3'α-iso y el 6'-epi son generados por isomerización no enzimática a pH ácido que tiene lugar en la luz gástrica antes de la absorción (Everett y cols., 1991; Ito y cols., 1998) (véase **Figura 1.8**, pág. 24). Si asumimos que los portadores del alelo 825T tienen un vaciado gástrico más lento y una menor secreción gástrica, es decir un pH más básico, la isomerización no enzimática de la pravastatina se reduciría por lo que habrá más pravastatina que llegue al intestino delgado para ser absorbida lo que aumentaría su disposición sistémica. En cambio, como la lovastatina y la simvastatina son liposolubles y no se ven afectadas por los cambios en el pH gástrico el retraso en el vaciado gástrico supondría que su llegada al intestino delgado fuera más pausada facilitando el metabolismo de primer paso a nivel de la pared intestinal y a concentraciones más bajas evitando su saturación con lo cual su disposición sistémica se vería reducida.

Debemos nuevamente insistir que el impacto de este polimorfismo en el gen *GNB3* sobre los parámetros cinéticos de las estatinas observado con los modelos de RLM fue nulo con el tercer modelo LMMR por lo que cabe la posibilidad de que en todos los casos de asociación se trate de falsos positivos.

5.2.3.- Interacción entre sexo y SNPs

Con el cuarto modelo de LMMR analizamos la existencia de interacción entre el sexo y el genotipo de cada uno de los 15 SNPs, es decir, si el efecto del polimorfismo genético sobre las variables farmacocinéticas analizadas para pravastatina, simvastatina y lovastatina es diferente en hombres y en mujeres, una vez ajustadas por las demás variables independientes (formulación, periodo, secuencia, sexo y genotipo en el caso de pravastatina y simvastatina, y además ensayo, en el caso de lovastatina) incluidas en el modelo (véanse **Figuras 3.8, 3.9 y 3.10**, pág. 161, 163 y 165, respectivamente).

Dos fueron los polimorfismos genéticos que presentaron un efecto sobre parámetros cinéticos de las estatinas diferente en ambos sexos con el cuarto

modelo LMMR que mantuvo su significación estadística después de la corrección para comparaciones múltiples.

El primero de ellos es el polimorfismo IVS10-108 C>T (rs2241409, SNP15) asociado a cierta pérdida de actividad en la enzima carboxilesterasa 2 codificada por el gen *CES2*. Su impacto sobre la vida media de eliminación ($t_{1/2}$) de la pravastatina fue claramente diferente en ambos sexos (véase **Figura 4.13**, pág. 224). En las mujeres el alelo T se asoció a una $t_{1/2}$ más larga. En cambio, en los hombres el alelo T se asoció a una $t_{1/2}$ más corta. Dado que la $t_{1/2}$ no fue analizada como variable dependiente en los modelos de RLM no disponemos de esta validación interna. En todo caso al ser este el primer estudio que ha investigado el impacto del polimorfismo IVS10-108 C>T (rs2241409, SNP15) sobre la cinética de la pravastatina nuestros resultados han de ser replicados en estudios posteriores.

El segundo es el polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5, p.V174A, SNP13) en el transportador *SLCO1B1* asociado a pérdida de actividad transportadora. Su impacto sobre la C_{max_dp} del hidroxíácido de simvastatina y su cociente metabólico (MR) fue estadísticamente diferente en hombres y mujeres (véase **Figura 4.16**, pág. 228), aunque la explicación más probable de esta interacción es la presencia de diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia genotípica y alélica entre los hombres y las mujeres que participaron en el estudio de bioequivalencia con simvastatina (véase **Tabla 4.8**, pág. 197).

Los otros dos polimorfismos genéticos que presentaron un efecto sobre parámetros cinéticos de las estatinas diferente en ambos sexos pero que no mantuvieron su significación estadística después de la corrección para comparaciones múltiples fueron el IVS2-784 A>G (rs10487132, SNP9) en el gen *PON3* y el c.825C>T (rs5443, SNP11) en el gen *GNB3*.

El alelo G del polimorfismo IVS2-784 A>G (rs10487132, SNP9) se asoció a un aumento en el AUC_{t_dp} de simvastatina en los hombres y a la ausencia de un efecto significativo en las mujeres (véase **Figura 4.14**, pág. 225). El efecto inverso se observó en el caso del aclaramiento aparente (Cl/F) de simvastatina. Este diferente impacto sobre la cinética de simvastatina no se explica por la existencia de diferencias en la frecuencia alélica o genotípica entre ambos sexos. Aunque perdió su significación estadística tras la corrección por comparaciones múltiples consideramos que es muy probable que esta interacción sea real ya que también la

hemos observado en el caso del AUCt_dp_t y el CI/F_t de simvastatina y del AUCt_dp_t de su hidroxíácido en el modelo de RLM (véase **Tabla 4.16**, pág. 234).

En cambio, la interacción observada entre el sexo y el efecto del polimorfismo c.825C>T (rs5443, SNP11) sobre el AUCt_dp y el CI/F de simvastatina (véase **Figura 4.15**, pág. 227) parece más espuria al perder su significación estadística tras la corrección para comparaciones múltiples y además de no poder ser reproducida con el modelo de RLM.

5.3.- Análisis del efecto de los polimorfismos genéticos sobre la reducción de colesterol total

El análisis del impacto de los polimorfismos genéticos sobre la reducción de colesterol total (CT) como consecuencia de la participación en estudios de bioequivalencia con estatinas surgió como un objetivo secundario de nuestro estudio farmacogenético a raíz de un hallazgo incidental e inesperado. El análisis del cambio en los niveles de CT respecto a los valores basales reveló una diferencia estadísticamente significativa a favor de los voluntarios que habían participado en estudios de bioequivalencia con estatinas respecto a los que habían participado en estudios con fármacos sin efecto hipolipemiente conocido.

La reducción en los niveles basales de CT en los voluntarios que habían tomado dos dosis de 40 mg de una de las tres estatinas (lovastatina, simvastatina o pravastatina) resultó 6.8 (IC95%: 1.8-11.9) mg/dl mayor que en los que habían recibido dos dosis de loperamida o mirtazapina. En el grupo de los voluntarios con estatinas sus niveles basales de CT se redujeron casi en el 75% de los casos (en el 50% de los casos la reducción fue mayor de 10 mg/dl) mientras que se observó una reducción sólo en el 50% de los voluntarios en el grupo que recibió loperamida o mirtazapina (véase **Figura 4.17**, pág. 244). No se detectaron diferencias significativas entre ambos grupos en la reducción de los triglicéridos (TG) respecto a los niveles basales. Tampoco hubo diferencias en el tiempo transcurrido desde la administración de la segunda dosis de fármaco y el momento de la determinación de CT y TG utilizada para evaluar su cambio respecto a los niveles basales (véase **Tabla 4.18**, pág. 245). Los resultados obtenidos no cambiaron tras repetir los análisis utilizando sólo una determinación de CT y TG por voluntario.

Otro argumento a favor de que la reducción de los niveles de CT en nuestro estudio está relacionada con la administración de dos dosis de estatinas fue la existencia de una relación lineal entre su magnitud y los niveles basales de CT (véase **Figura 4.18**, pág. 245). La reducción de los niveles de CT fue mayor en los sujetos con niveles basales más altos al igual que en los pacientes hipercolesterolémicos en tratamiento con estatinas (Law y cols., 2003).

El último argumento que nos terminó de convencer de que la reducción de los niveles de CT es real y relacionada con la administración de las estatinas fue existencia de diferencias en la magnitud de la reducción entre las estatinas reflejando su distinta potencia hipolipemiente a la misma dosis de 40 mg administrada (véase **Tabla 1.7**, pág. 52). La reducción media en los niveles de CT

fue muy parecida con pravastatina y lovastatina (7.6 y 6.6 mg/dl, respectivamente), reflejo de su igual potencia, mientras que con la misma dosis de 40 mg la de la simvastatina fue de 17.6 mg/dl. Esta diferencia puede considerarse como reflejo de su dos veces mayor potencia hipolipemiente, aunque, al menos en parte, puede ser explicada por los niveles basales de CT más altos que las otras dos estatinas (véase **Tabla 4.20**, pág. 247). Por otro lado, varios estudios han descrito una reducción significativa de la tasa de síntesis endógena de colesterol en voluntarios sanos en las 12 primeras horas posteriores a la administración de una dosis única de estatinas (Niemi y cols., 2005; Pasanen y cols., 2008b). Además, Igel y cols. (2006) han observado una reducción significativa en los niveles de colesterol total y LDL de 15% y 30%, respectivamente, en 16 voluntarios sanos tratados con 40 mg diarios de pravastatina durante 3 semanas.

El análisis del efecto de los 15 polimorfismos sobre el cambio en los niveles de CT (Δ CT) y el porcentaje de su variabilidad interindividual que explican se realizó utilizando el método de regresión lineal multivariante (RLM) por "pasos sucesivos" para seleccionar el mejor modelo utilizando una serie de variables independientes preestablecidas. Las variables independientes para pravastatina de entre las cuales se seleccionó el mejor modelo fueron el sexo, los 15 SNPs genotipados, el $AUC_{t_{dp_t}}$, el $CI/F_{t_{dp_t}}$, el tiempo post administración en el 2º periodo del ensayo y los niveles basales de colesterol (n=20), mientras que para simvastatina fueron las mismas más el $OHAc-AUC_{t_{dp_t}}$ y el $MR_{t_{dp_t}}$ (n=22). Para lovastatina fueron las mismas que simvastatina más la covariable ensayo clínico (n=23). Al igual que en el caso de las variables farmacocinéticas, la selección de los mejores modelos de RLM se ha realizado para las tres estatinas en todos los voluntarios y en los hombres y mujeres por separado.

Los modelos de RLM para la eficacia hipolipemiente (Δ CT) con simvastatina, pravastatina y lovastatina explicaron el 52%, 46% y 36% de su variabilidad interindividual, respectivamente (véanse **Tablas 4.21, 4.22 y 4.23**, pág. 251, 253 y 255, respectivamente). La covariable independiente que explicaba el mayor porcentaje de la variabilidad en el Δ CT fue el nivel basal de CT explicando el 42%, 31% y 23% de la variabilidad interindividual en la respuesta hipolipemiente de pravastatina, simvastatina y lovastatina, respectivamente. Otras covariables independientes retenidas en los modelos de RLM fueron el $AUC_{t_{dp_t}}$ del hidroxíácido de simvastatina y lovastatina (explicando el 19% y el 4% de la variabilidad, respectivamente) y en el caso de la simvastatina el cociente metabólico ($MR_{t_{dp_t}}$) (explicando el 4% de la variabilidad). Paradójicamente los

valores elevados del $AUC_{t_{dp_t}}$ del hidroxiácido de simvastatina y lovastatina en plasma se asociaron a una menor reducción de CT probablemente reflejando una disposición intrahepatocitaria menor. En cambio, los valores elevados en el cociente metabólico de simvastatina (MR_t), que refleja la proporción de hidroxiácido y lactona circulando en plasma, se asociaron a una mayor reducción de CT. El efecto de los polimorfismos genéticos sobre el ΔCT fue corregido por las posibles diferencias en estas covariables no genéticas retenidas en los modelos.

Los tres polimorfismos retenidos en los modelos de RLM no estratificados por sexo fueron el rs2241409 (IVS10-108C>T, SNP15), el c.11193T>C (rs3814058, Ex10-42T>C, SNP6) y el c.825C>T (rs5443, Ex10-92C>T, p.S275S, SNP11), en los genes *CES2*, *NR1I2* y *GNB3*, respectivamente. Sus variantes alélicas con efecto funcional conocido (disminución de actividad en las dos primeras y aumento en la última) se asociaron a una menor reducción de los niveles de CT explicando una parte relativamente pequeña (7%, 6% y 5.5%, respectivamente) de la variabilidad interindividual en la respuesta hipolipemiente (ΔCT) de pravastatina (rs2241409 C>T, SNP15) y lovastatina en el caso del c.11193T>C (rs3814058, SNP6) y el c.825C>T (rs5443, SNP11) (véanse **Tablas 4.21 y 4.23**, pág. 251 y 255). El efecto de estos polimorfismos sobre la respuesta hipolipemiente de las estatinas en pacientes o voluntarios sanos no ha sido investigado hasta la fecha, por lo que ha de ser replicado en estudios prospectivos.

Los otros dos polimorfismos retenidos en los modelos de RLM estratificados por sexo fueron el polimorfismo c.388A>G (*SLCO1B1**1b, rs2306283, p.N130D, SNP12) y el rs2235048 (IVS27+80C>T, SNP7) en los genes *SLCO1B1* y *ABCB1*, respectivamente. El alelo *1b que induce un aumento de la actividad transportadora del *SLCO1B1* se asoció a una menor reducción de los niveles de CT explicando el 21%, y 17% de la variabilidad interindividual en la respuesta hipolipemiente (ΔCT) en las mujeres que recibieron lovastatina y en los hombres que recibieron pravastatina, respectivamente (véanse **Tablas 4.21 y 4.23**, pág. 251 y 255). En el caso de la pravastatina nuestros resultados discrepan con los publicados. Varios estudios en voluntarios sanos (Niemi y cols., 2005; Igel y cols., 2006; Pasanen y cols., 2008b) y en pacientes (Hedman y cols., 2006; Takane y cols., 2006; Zhang y cols., 2007) han observado una mayor respuesta hipolipemiente en los sujetos con *SLCO1B1**1b y menor en los sujetos con *SLCO1B1**5 tratados con pravastatina. Los mismos resultados se observaron en pacientes tratados con simvastatina (Link y cols., 2008) y los tratados con estatinas sin estratificar por cada una de ellas (Tachibana-Iimori y cols., 2004).

Pasanen y cols. (2008b) no han detectado diferencias en la reducción de la biosíntesis endógena de colesterol en las 12h post dosis única de cinco estatinas diferentes en 32 voluntarios sanos; pero sí observaron una tasa de la biosíntesis endógena basal de colesterol 40% menor en los portadores homocigotos del polimorfismo *SLCO1B1**5 respecto a los individuos con otros genotipos.

Una explicación de este hallazgo podría estar relacionada con la implicación del transportador *SLCO1B1* en la homeostasis intrahepatocitaria de los ácidos biliares (Pasanen y cols., 2008b). La captación del torrente circulatorio de los ácidos biliares por los hepatocitos se realiza en su mayoría (80%) por el transportador *SLC10A1* (NTCP, siendo un transporte sodio-dependiente) y sólo un 20% por parte de los *SLCO1B1*, *1B3* y *2B1* (sodio-independiente) aunque la contribución de cada uno de los tres transportadores sodio-independientes se desconoce y probablemente no sea la misma para cada uno de los diferentes ácidos biliares. La concentración intrahepatocitaria de ácidos biliares depende de su tasa de captación, su síntesis endógena y su la tasa de excreción biliar. En los hepatocitos el exceso de colesterol es convertido en ácidos biliares y el exceso de ácidos biliares reduce el catabolismo del colesterol. Cuando la captación de los ácidos biliares se ve afectada por polimorfismos que reducen la capacidad transportadora del *SLCO1B1*, la concentración intrahepatocitaria desciende, el catabolismo del colesterol se reduce lo que suprime el *feedback* negativo sobre la actividad de la HMG-CoA reductasa y el resultado final es un incremento neto la tasa de biosíntesis endógena de colesterol (Pasanen y cols., 2008b).

En el caso de la lovastatina el nuestro es el primer estudio que ha observado un impacto significativo del polimorfismo c.388A>G (*SLCO1B1**1b, rs2306283, SNP12) sobre su eficacia hipolipemiente. También es el primero en investigar el efecto del polimorfismo rs2235048 (IVS27+80C>T, SNP7) en el gen *ABCB1*. El alelo T del rs2235048 se asoció a una menor reducción de los niveles de CT explicando el 6% de la variabilidad interindividual en la respuesta hipolipemiente (Δ CT) en las mujeres que recibieron lovastatina. Los estudios que han investigado el efecto de polimorfismos en el gen *ABCB1* sobre la eficacia hipolipemiente de otras estatinas han observado una asociación con polimorfismos (c.1236C>T, rs1128503; c.2677 G>T/A, rs2032582 y c.3435C>T, rs1045642, SNP8) o su haplotipo (TTT) asociados a disminución de la actividad transportadora del *ABCB1* pero en la dirección contraria.

En un primer estudio Fiegenbaum y cols. (2005b) observaron una mayor reducción de CT y LDL en los portadores del haplotipo TTT tratados con simvastatina. En otro estudio reciente, Becker y cols. (2009) observaron que los portadores homocigotos de cualquiera de estos tres polimorfismos presentaron una mayor reducción de colesterol total al segundo mes de tratamiento con simvastatina pero sólo los polimorfismos c.1236C>T (rs1128503) y c.3435C>T (rs1045642, SNP11) se asociaron también a una mayor reducción de LDL. Los portadores de los haplotipos TTT y CGT presentaron una mayor reducción de LDL y los portadores del haplotipo TTT una mayor reducción de colesterol total respecto al haplotipo de referencia CGC. El análisis estratificado por sexos reveló que esta asociación desaparecía en las mujeres. En cambio entre los hombres los portadores de los haplotipos TTT o CGT presentaban una mayor reducción de colesterol total y LDL que los portadores del haplotipo de referencia CGC. Sin embargo, la principal limitación de este estudio radica en que los valores *P* no fueron corregidos para comparaciones múltiples. Otros dos estudios observaron una mejor respuesta hipolipemiente en pacientes tratados con atorvastatina portadores de polimorfismos asociados a disminución de la actividad transportadora del ABCB1 (Kajinami y cols., 2004b; Thompson y cols., 2005). En cambio, sólo un estudio observó una asociación en la misma dirección que nuestros resultados con lovastatina. Mega y cols. (2009) observaron que en los pacientes tratados con pravastatina portadores del genotipo T/A (no-G) del polimorfismo c.2677G>T/A (rs2032582) presentaban una peor respuesta hipolipemiente siendo su reducción en los niveles de LDL a los treinta días del inicio del tratamiento entre 3 y 6% menor.

El efecto del polimorfismo c.825C>T (rs5443, SNP11) en toda la población de hombres y mujeres que recibieron lovastatina, como ya hemos visto, pero también al estratificar por sexo en los hombres tratados con esta estatina, se asoció a una menor reducción en los niveles de CT (explicando el 15% de su variabilidad). En cambio, en las mujeres que recibieron simvastatina la dirección de la asociación fue la opuesta. El alelo c.825T se asoció a una mayor reducción en los niveles de CT aunque explicando sólo un 7% de su variabilidad interindividual (véase **Tabla 4.22**, pág. 253). Parece que el efecto del polimorfismo c.825C>T (rs5443, SNP11) sobre la reducción de los niveles de CT es independiente de su efecto sobre el AUCt_dp_t del ácido hidroxilado de lovastatina y simvastatina al estar esta variable cinética retenida en los modelos de RLM de ambas estatinas. Nuestro es el primer estudio que investiga el impacto del c.825C>T (rs5443) sobre la respuesta hipolipemiente de las estatinas. El único estudio que hasta la fecha ha relacionado a este polimorfismo con las estatinas es el de Peters y cols. (2008) que han objetivado que los

portadores del alelo 825T (CT o TT), tratados con fármacos antihipertensivos y que además recibían estatinas como profilaxis secundaria de la cardiopatía isquémica, se beneficiaban más del tratamiento hipolipemiante. La reducción absoluta del riesgo de sufrir un segundo infarto de miocardio en los portadores del alelo 825T (CT o TT) tratados con estatinas fue un 21% mayor que en los no portadores (825CC). No obstante, al no investigar el efecto de este polimorfismo sobre la respuesta hipolipemiante a las estatinas no está claro si su efecto se debe a que se asocia a una mayor respuesta hipolipemiante o a un mayor beneficio del tratamiento antihipertensivo.

5.4.- Interacciones epistáticas

Para la detección de la presencia de interacciones epistáticas entre los polimorfismos analizados hemos utilizado el método de la reducción generalizada de la dimensionalidad multifactorial o GMDR (*"Generalized Multifactor Dimensionality Reduction"*). Se trata de un nuevo método desarrollado en 2007 por Lou y cols. (2007) como una extensión o generalización de la reducción de la dimensionalidad multifactorial o MDR (*"Multifactor Dimensionality Reduction"*) desarrollada previamente por Ritchie y cols. (20001). El GMDR permite el análisis de fenotipos dicotómicos y cuantitativos continuos, puede ser aplicado tanto a estudios de diseño de casos y controles no balanceados como a poblaciones seleccionadas o aleatorias, y lo más importante y exclusivo, permite el ajuste por covariables cuanti y cualitativas. Hasta la fecha ningún estudio ha investigado la presencia de interacciones epistáticas en las variables cinéticas o dinámicas de las estatinas.

Dado que el método GMDR necesita un tamaño muestral considerable lo hemos aplicado sólo a los voluntarios con lovastatina (3-LOVs, n=100). Tras retirar a los individuos con algún genotipo indeterminado hemos utilizado el programa *GMDR v0.7* para analizar la presencia de epístasis en las variables farmacocinéticas y farmacodinámicas en los restantes 89 voluntarios (43 hombres y 46 mujeres).

La utilización del método GMDR nos ha permitido determinar la existencia de una epístasis estadística que ocurre a nivel poblacional y que se refiere a la presencia de una desviación de la aditividad como indicador indirecto de la probable existencia de una epístasis biológica que ocurre a nivel del individuo (véase **Figura 1.23**, pág. 112). La presencia de epístasis biológica implica la existencia de epístasis estadística pero no al revés, ya que la no detección de epístasis a nivel poblacional no necesariamente indica la ausencia de epístasis biológica. La epístasis biológica representaría a la influencia de las interacciones entre los polimorfismos genéticos en el mismo o en distintos genes sobre la característica fenotípica a través de su efecto sobre las proteínas que codifican y que interactúan físicamente entre sí y/o con el fármaco en la red modular responsable de establecer el fenotipo cinético-dinámico y de toxicidad en el contexto de la farmacología de sistemas (Phillips, 2008; Wist y cols., 2009; Berger y cols., 2009).

La presencia de interacciones epistáticas en las enfermedades poligénicas humanas ha sido ampliamente estudiada, sin embargo, a pesar de la existencia del marco teórico y metodológico (Wilke y cols., 2005) necesario para investigar la presencia

de interacciones genéticas en los estudios farmacogenéticos éstos son escasos. Hasta la fecha se han publicado sólo tres estudios que describen interacciones epistáticas en la respuesta hipolipemiente a la atorvastatina (Kajinami y cols., 2004d; Kajinami y cols., 2005a y 2005b) pero ninguno que describiera interacciones epistáticas en la cinética de las estatinas.

5.4.1.- Epístasis en las variables cinéticas de lovastatina

En cada una de las tres variables farmacocinéticas del hidroxiácido ($C_{\max_dp_t}$, $AUC_{t_dp_t}$ o MR_t) de lovastatina se detectó al menos un modelo epistático estadísticamente significativo (véase **Tabla 4.25**, pág. 258).

El modelo epistático que alcanzó la significación estadística para la $C_{\max_dp_t}$ del hidroxiácido fue el de 4 SNPs que incluía al SNP8 del gen *ABCB1*, al SNP9 del gen *PON3* y a los SNP12 y SNP13 del gen *SLCO1B1*. Su precisión de predicción fue del 73% y la consistencia de su validación cruzada del 50%. La red modular de interacciones que este modelo epistático revela no sería nueva ya que la lovastatina interactúa con los transportadores *SLCO1B1* y *ABCB1*, el primero facilita su captación intrahepatocitaria y el segundo su excreción a nivel intestinal y biliar. Por último, la paraoxonasa *PON3* es una de las esterasas responsables de catalizar su hidrólisis enzimática para dar lugar al hidroxiácido.

Para el $AUC_{t_dp_t}$ del hidroxiácido de lovastatina se detectaron tres modelos epistáticos que fueron estadísticamente significativos; el de 2, 3 y 4 SNPs. El modelo epistático de 2 polimorfismos contenía al SNP12 y al SNP13, ambos del mismo gen, el *SLCO1B1*, y su precisión de predicción fue del 82% y la consistencia de su validación cruzada del 50%. El modelo epistático de 3 polimorfismos contenía, además del SNP12 y el SNP13 presentes en el modelo anterior, al SNP8 del gen *ABCB1*. Su precisión de predicción fue del 87% y la consistencia de su validación cruzada del 80%. El modelo epistático de 4 polimorfismos contenía, además del SNP8, el SNP12 y el SNP13 presentes en el modelo anterior, al SNP1 del gen *NR1I3*. Su precisión de predicción fue del 71% y la consistencia de su validación cruzada sólo del 30%. Estos tres modelos epistáticos revelan una red modular de interacciones para el $AUC_{t_dp_t}$ similar a la de la $C_{\max_dp_t}$ a la que se añadiría el receptor nuclear *NR1I3* del que la lovastatina es agonista (Willrich y cols., 2009).

Para el cociente metabólico (MR_t) de lovastatina, también, se detectaron tres modelos epistáticos que fueron estadísticamente significativos; el de 2, 3 y 7 SNPs.

El modelo epistático de 2 polimorfismos contenía el SNP8 del gen *ABCB1* y el SNP13 del gen *SLCO1B1*. Su precisión de predicción fue del 79% y la consistencia de su validación cruzada del 90%. El modelo epistático del MR_t de 3 polimorfismos contenía el SNP3 del gen *NR1I3* y el SNP12 y el SNP13, ambos del gen *SLCO1B1*. Su precisión de predicción fue del 69% y la consistencia de su validación cruzada del 80%. Por último, el modelo epistático del MR_t de 7 polimorfismos contenía al SNP2 del gen *NR1I3*, al SNP4 del gen *NR1I2*, al SNP8 del gen *ABCB1*, al SNP11 del gen *GNB3*, al SNP12 y al SNP13, ambos del gen *SLCO1B1*, y al SNP14 del gen *CYP1A2*. Su precisión de predicción fue sólo del 51% pero la consistencia de su validación cruzada del 90%. La red modular de interacciones para el cociente metabólico (MR_t) que estos tres modelos epistáticos revelan contiene los mismos componentes que las redes de los dos parámetros cinéticos anteriores a la que se incorporaría el otro receptor nuclear (NR1I2) del que las estatinas son también agonistas (Willrich y cols., 2009) además de otros dos genes, el *GNB3* y el *CYP1A2*, cuya interacción con la lovastatina era desconocida.

La ausencia de modelos epistáticos en las tres variables farmacocinéticas ($C_{\max_dp_t}$, AUC_dp_t o Cl/F_t) de la lactona de lovastatina que alcanzaran significación estadística únicamente indica la ausencia de epístasis estadística lo que no necesariamente descarta la presencia de epístasis biológica.

5.4.2.- Epístasis en la respuesta hipolipemiente a lovastatina

La única variable farmacodinámica de lovastatina en la cual se investigó la presencia de interacciones epistáticas fue el cambio de colesterol total respecto a la basal (ΔCT). El único modelo epistático que fue estadísticamente significativo ($p=0.01$) fue el de la interacción entre el SNP2 del gen *NR1I3* y el SNP4 del gen *NR1I2*. Su precisión de predicción fue del 69% y la consistencia de su validación cruzada del 100% (véase **Tabla 4.26**, pág. 268).

La red modular de interacciones que este modelo epistático revela no sería nueva ya que las estatinas interactúan como agonistas con ambos receptores nucleares lo novedoso es el “fenotipo” de respuesta hipolipemiente en cuyo contexto se produce esta interacción. Los receptores nucleares NR1I2 (PXR) y NR1I3 (CAR) son xenosensores implicados en la regulación de la expresión de las enzimas metabolizadoras de fármacos de fase I (CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5 y CYP3A7), las de fase II (glutación-S-transferasas, GSTs; UDP-glucuronil transferasas, UGTs y sulfotransferasas, SULTs) y varias proteínas transportadoras de fármacos (ABCB1, ABCC2, ABCC4 y SLCO1A2) (Lamba, 2008b;

Zhang y cols., 2008; Meyer y cols., 2009). Sin embargo, dado que el modelo epistático está ajustado por las covariables sexo, niveles basales de colesterol total, AUC_{dp_t} de la lactona y AUC_{dp_t} del hidroxiaácido de lovastatina es poco probable que la interacción epistática detectada se deba a su impacto sobre parámetros cinéticos. Lo más probable es que se deba a su papel como sensores de sustancias endobioticas entre las que se encuentran los ácidos biliares, la bilirrubina y los glucocorticoides, y su implicación en la homeostasis lipídica y la esteroidogénesis (Lamba, 2008b; Zhang y cols., 2008).

El nuestro es el primer estudio que describe una interacción epistática en la respuesta hipolipemiente a la lovastatina en voluntarios sanos. Sin embargo, hasta la fecha hay descritas tres interacciones epistáticas en la respuesta hipolipemiente a la atorvastatina. Kajinami y cols. (2004c) observaron la existencia de una interacción epistática negativa entre los polimorfismos de los genes *CYP7A1* y el *ABCG8* en la respuesta hipolipemiente a la atorvastatina; el efecto del polimorfismo -204A>C en el promotor del gen *CYP7A1* anulaba el efecto beneficioso del polimorfismo Ex1-9G>C (p.19D>H, rs11887534) en el gen *ABCG8*. De esta forma los portadores del polimorfismo Ex1-9G>C en el gen *ABCG8* y no portadores del polimorfismo -204A>C en el gen *CYP7A1* presentaban una reducción de los niveles de LDL 8.5% mayor que los portadores del polimorfismo -204A>C en el gen *CYP7A1* y no portadores del polimorfismo Ex1-9G>C en el gen *ABCG8*. Un estudio posterior demostró también la existencia de una interacción epistática positiva entre el mismo polimorfismo en el gen *CYP7A1* (-204A>C) y el polimorfismo en el gen *APOE*, ambos asociados con peor respuesta hipolipemiente a la atorvastatina (Kajinami y cols., 2005b). La reducción de los niveles de LDL en los portadores del alelo C del polimorfismo -204A>C y del alelo ε4 fue menor que la suma de sus efectos individuales. Por último, Kajinami y cols. (2005a) investigando la asociación del haplotipo 2 (PvuII-XbaI+) en el gen del receptor nuclear de estrógenos tipo 1 (*ESR1*) con la respuesta hipolipemiente en pacientes tratados con atorvastatina observaron que la asociación existe pero que es sexo-dependiente. En las mujeres los portadores del haplotipo 2 presentaron un aumento de los niveles de HDL 6% mayor que en los no portadores, en cambio, entre los varones no hubo diferencias significativas. Otro hallazgo interesante fue la descripción de la existencia de una interacción epistática sexo-dependiente con el polimorfismo +83(+>-) en el gen *APOA1*. En las mujeres existía una interacción epistática positiva, es decir, portadoras de los polimorfismos en ambos genes presentaban un mayor aumento en los niveles de HDL. En cambio, en los varones los portadores homocigotos del haplotipo 2 del gen *ESR1* que eran homocigotos para el alelo silvestre del

polimorfismo en el gen *APOA1* se beneficiaban más que el resto presentando un aumento 3.3% mayor en los niveles de HDL. Estos hallazgos sugieren que las interacciones epistáticas existen y que han de ser investigadas.

La búsqueda en los estudios farmacogenéticos con las herramientas metodológicas disponibles de interacciones epistáticas permitiría detectar la existencia de epístasis estadística indicador de la presencia de una epístasis biológica e inferir la arquitectura de las complejas redes modulares de interacción entre los genes y los fármacos responsables de determinar su "fenotipo" cinético-dinámico y/o de toxicidad y avanzar en la comprensión de la farmacología de sistemas (Aylor y cols., 2008; Phillips, 2008; Wist y cols., 2009; Berger y cols., 2009).

5.5.- Limitaciones del estudio

Nuestro estudio posee una serie de limitaciones implícitas a su diseño que merecen la pena ser reseñados.

1) Nuestra población de estudio está compuesta por voluntarios sanos jóvenes que han recibido dos dosis únicas de cada estatina sin otros fármacos concomitantes y por tanto muy distinta a los pacientes de edad avanzada con pluripatología y polimedicados que constituyen la población diana habitual del tratamiento hipolipemiente con estatinas.

2) Nuestro estudio farmacogenético se realizó de forma retrospectiva aprovechando los datos cinéticos de los estudios de bioequivalencia con estatinas disponibles. Por este motivo no pudo ser equilibrado por el genotipo de cada uno de los polimorfismos investigados tal y como se recomienda (Lesko y cols., 2003), por lo que el poder de detectar diferencias estadísticamente significativas era directamente proporcional a la frecuencia alélica de los polimorfismos en nuestra población.

3) Nuestro estudio farmacogenético no incluyó a los polimorfismos funcionales de todos los genes ADME de los que las estatinas investigadas son sustrato como, por ejemplo, los de los transportadores ABCG2, ABCC2, ABCB11, SLCO1A2, SLCO1B3, SLCO2B1, SLC22A8, SLC16A1 y SLC16A3 o los de las UDP-glucuroniltransferasas (UGTs).

4) Por último, el fenotipo y el contexto escogido para evaluar la respuesta hipolipemiente de las estatinas no es el más adecuado ya que surgió a raíz de un hallazgo incidental y fue incorporado como un objetivo secundario por lo que los resultados que de él se derivan han de ser considerados como meramente exploratorios.

5.6.- Implicaciones clínicas

En un artículo reciente Niemi (2010) basándose en el hallazgo de la asociación del polimorfismo c.521T>C en el gen *SLCO1B1* (rs4149056, *SLCO1B1**5) con un elevado riesgo de miopatía en los pacientes tratados con simvastatina (el 60% de los casos de miopatía pueden ser atribuidos a este polimorfismo con un OR de 4.5 por cada alelo C (Link y cols., 2008) y confirmada recientemente por Voora y cols. (2009), asumiendo que esta reacción adversa es dosis/exposición dependiente y basándose en los datos publicados del impacto de este polimorfismo sobre la disposición de las estatinas en voluntarios sanos, ha establecido las dosis máximas recomendadas en función del genotipo del c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5) para seis de las siete estatinas actualmente comercializadas (**Figura 5.1**).

La principal aportación con aplicación clínica de nuestro estudio farmacogenético es haber proporcionado los datos del impacto del polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5) sobre la disposición de lovastatina que permiten establecer las dosis máximas recomendadas para cada genotipo de este polimorfismo y extender así las recomendaciones de Niemi (2010) para todas y cada una de las estatinas actualmente comercializadas.

<i>SLCO1B1</i>*5					
c.521 T>C (rs4149056)					
Estatina	TT	TC	CC	Rango de dosis*	Fuente
Lovastatina	40 mg	20 mg	10 mg	10 – 40 mg/día	Este estudio
Simvastatina	80 mg	40 mg	20 mg	5 – 80 mg/día	Niemi (2010)
Pitavastatina	4 mg	2 mg	1 mg	1 – 4 mg/día	Niemi (2010)
Atorvastatina	80 mg	40 mg	20 mg	10 – 80 mg/día	Niemi (2010)
Pravastatina	80 mg	40 mg	40 mg	10 – 80 mg/día	Niemi (2010)
Rosuvastatina	40 mg	20 mg	20 mg	5 – 40 mg/día	Niemi (2010)
Fluvastatina	80 mg	80 mg	80 mg	20 – 80 mg/día	Niemi (2010)

* Rango de dosis basado en las dosis máximas recomendadas por la FDA.

Figura 5.1. Dosis máximas de estatina recomendadas para adultos de origen caucasiano en función del genotipo *SLCO1B1**5. (Modificada de Niemi, 2010).

Estas recomendaciones constituyen la base para el diseño de un estudio prospectivo de intervención que evalúe si el ajuste de dosis máxima que se derive del genotipado para el polimorfismo c.521T>C (rs4149056, *SLCO1B1**5) antes del inicio del tratamiento hipolipemiente con estatinas reduce la incidencia no sólo de miopatía sino también los casos de rabdomiolisis manteniendo el mismo beneficio terapéutico. Con los datos retrospectivos disponibles y el precio actual de los test genéticos a fecha de hoy genotipar a todos los pacientes antes de iniciar tratamiento hipolipemiente con estatinas no es coste-efectivo (Peters y cols., 2009). Sin embargo, dado que el precio de los test genéticos está bajando con el

tiempo y teniendo en cuenta que las estatinas son uno de los fármacos más prescritos a nivel mundial la investigación del impacto de esta intervención farmacogenética podría contribuir a que en un futuro la selección de la estatina y su dosis se establezca dependiendo del genotipo y de las circunstancias individuales de cada paciente para obtener un tratamiento más eficaz y más seguro.

6 CONCLUSIONES

Frecuencias genotípicas y alélicas

1. Las frecuencias genotípicas y alélicas de los 15 polimorfismos en 9 genes (*CYP3A5*, *CYP1A2*, *PON3*, *CES2*, *ABCB1*, *SLCO1B1*, *NR1I2*, *NR1I3* y *GNB3*) encontradas en la población de voluntarios sanos españoles estudiada son similares a las halladas en los caucasianos de origen centroeuropeo del Proyecto HapMap y en otras poblaciones caucásicas. Las frecuencias genotípicas y alélicas de los dos polimorfismos del gen *CYP3A4* investigados no pudieron ser comparadas al resultar monomórficos en nuestra población.
2. Las frecuencias genotípicas y alélicas de los 5 polimorfismos en 5 genes (*CYP3A5*, *CYP1A2*, *ABCB1*, *NR1I2* y *GNB3*) encontradas en la población de voluntarios sanos españoles estudiada son similares a las halladas previamente en varias poblaciones españolas. Nuestro estudio es el primero que describe en una población española las frecuencias genotípicas y alélicas de los restantes 10 polimorfismos.

Diferencias entre hombres y mujeres en la cinética

3. Las diferencias observadas entre hombres y mujeres en las variables farmacocinéticas de pravastatina y simvastatina son debidas a la mayor cantidad de dosis por unidad de peso corporal recibida por las mujeres dado su menor peso corporal.
4. Las diferencias observadas entre hombres y mujeres en la C_{\max} , el AUC_t y el aclaramiento aparente de lovastatina no son explicables por las diferencias entre sexos en el peso corporal. La C_{\max} y el AUC_t ajustados por la dosis recibida por unidad de peso corporal son más altos en los hombres y el aclaramiento aparente es más alto en las mujeres.

Impacto de los polimorfismos sobre la cinética

5. Los polimorfismos en el gen del transportador *SLCO1B1* son los que presentaron el mayor impacto sobre la cinética de las estatinas. Su efecto fue detectado por el modelo lineal mixto de medidas repetidas y por el modelo de regresión lineal multivariante.

6. La variante alélica *SLCO1B1**5 del gen *SLCO1B1* se asoció a un incremento clínicamente relevante en la disposición del hidroxiácido de simvastatina, en la del hidroxiácido de lovastatina y en la de pravastatina.
7. La variante alélica *SLCO1B1**1b del gen *SLCO1B1* se asoció a un descenso en la disposición de pravastatina. Sin embargo, careció de efecto sobre la disposición de simvastatina y su asociación a un descenso en la disposición del hidroxiácido de lovastatina fue detectada sólo por el modelo de regresión lineal multivariante por lo que necesita ser confirmada en estudios posteriores.
8. El impacto de los polimorfismos en los genes *ABCB1*, *PON3*, *NR1I2*, *NR1I3*, *CYP1A2* y *GNB3* sobre la cinética de las estatinas fue menor y al ser detectada sólo por el modelo de regresión lineal multivariante, necesita una confirmación posterior.
9. El impacto de los polimorfismos en los genes *CYP3A5* y *CES2* sobre la disposición de las estatinas fue nulo.

Interacción entre sexo y genotipo

10. Los polimorfismos en los genes de las esterasas *CES2* y *PON3* fueron los únicos polimorfismos que presentaron un efecto sobre parámetros cinéticos de las estatinas diferente en ambos sexos no explicable por las diferencias en las frecuencias genotípicas entre los hombres y mujeres de nuestra población de estudio.
11. En las mujeres el alelo T del polimorfismo IVS10-108C>T (rs2241409) en el gen *CES2* se asoció a una vida media de eliminación ($t_{1/2}$) de pravastatina más larga. En cambio, en los hombres el alelo T se asoció a una $t_{1/2}$ más corta.
12. El alelo G del polimorfismo IVS2-784A>G (rs10487132) en el gen *PON3* se asoció a un aumento en el AUC_t de simvastatina en los hombres y careció de un efecto significativo en las mujeres. El efecto fue el inverso en el caso del aclaramiento aparente de simvastatina.

Impacto de los polimorfismos sobre la reducción de colesterol total

13. Los niveles basales de colesterol total fueron la variable independiente que explicó la mayor parte de la variabilidad interindividual en la reducción de los niveles de colesterol total observada en nuestra población de voluntarios sanos.

- 14.** El polimorfismo IVS10-108C>T (rs2241409) en el gen *CES2* se asoció a una menor reducción en los niveles de colesterol total en los voluntarios sanos que recibieron pravastatina. En el caso de lovastatina fueron los polimorfismos c.11193T>C (rs3814058) y c.825C>T (rs5443) en los genes *NR1I2* y *GNB3* los que se asociaron de forma independiente a una menor reducción en los niveles de colesterol total. La variabilidad interindividual en la reducción de colesterol total que estos polimorfismos explican es relativamente pequeña.

Interacciones epistáticas

- 15.** Las interacciones epistáticas en las variables cinéticas y de respuesta hipolipemiente de lovastatina, a pesar de ser fruto de un análisis exploratorio, revelan la existencia de complejas redes modulares de interacción entre genes no carentes de fundamento fisiológico, por lo que merecen ser investidas en estudios posteriores.

7 BIBLIOGRAFÍA

- Adam B, Liebrechts T, Holtmann G. Mechanisms of disease: genetics of functional gastrointestinal disorders--searching the genes that matter. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2007; 4(2):102-10. [PMID: 17268545]
- Agema WR, Wouter Jukema J, de Maat MP, Zwinderman AH, Kastelein JJ, Rabelink TJ, van der Wall EE. Pharmacogenetics of the CD14 endotoxin receptor polymorphism and progression of coronary atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 2004a; 91(5):986-90. [PMID: 15116260]
- Agema WR, de Maat MP, Zwinderman AH, Kastelein JJ, Rabelink TJ, van Boven AJ, et al. An integrated evaluation of endothelial constitutive nitric oxide synthase polymorphisms and coronary artery disease in men. *Clin Sci (Lond)*. 2004b; 107(3):255-61. [PMID: 15068395]
- AHA (American Heart Association). American Heart Association (AHA). Heart Disease and Stroke Statistics - 2009 Update. American Heart Association: Dallas, 2009. Disponible en: <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=3037327> (accedido el 10 de abril de 2009).
- Ahlenstiel G, Nischalke HD, Bueren K, Berg T, Vogel M, Biermer M, Grünhage F, Sauerbruch T, Rockstroh J, Spengler U, Nattermann J. The GNB3 C825T polymorphism affects response to HCV therapy with pegylated interferon in HCV/HIV co-infected but not in HCV mono-infected patients. *J Hepatol*. 2007; 47(3):348-55. [PMID: 17559964]
- Alberts AW, Chen J, Kuron G, Hunt V, Huff J, Hoffman C et al. Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1980; 77(7):3957-61. [PMID: 6933445]
- Almeida S, Filipe A, Almeida A, Gich I, Antonijoan R, Puntos M, Barbanoj M, Cruz Caturla M. Comparative study on the bioequivalence of two formulations of pravastatin. Data from a crossover, randomised, open-label bioequivalence study in healthy volunteers. *Arzneimittelforschung*. 2006; 56(2):70-5. [PMID: 16572920]
- Amirimani B, Ning B, Deitz AC, Weber BL, Kadlubar FF, Rebbeck TR. Increased transcriptional activity of the CYP3A4*1B promoter variant. *Environ Mol Mutagen*. 2003; 42(4):299-305. [PMID: 14673875]
- Anagnostopoulou K, Kolovou G, Kostakou P, Mihas C, Mikhailidis D, Cokkinos DV. Pharmacogenetic study of cholesteryl ester transfer protein gene and simvastatin treatment in hypercholesterolaemic subjects. *Expert Opin Pharmacother*. 2007; 8(15):2459-63. [PMID: 17931083]
- Andresen V, Camilleri M, Kim HJ, Stephens DA, Carlson PJ, Talley NJ, Saito YA, Urrutia R, Zinsmeister AR. Is there an association between GNBeta3-C825T genotype and lower functional gastrointestinal disorders? *Gastroenterology*. 2006; 130(7):1985-94. [PMID: 16762621]
- Anderson RG, Goldstein J and Brown M. From cholesterol homeostasis to new paradigms in membrane biology. *Trends Cell Biol*. 2003; 13(10):534-9. [PMID: 14507481]
- Anderson GD. Sex and racial differences in pharmacological response: where is the evidence? Pharmacogenetics, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *J Womens Health (Larchmt)*. 2005; 14(1):19-29. [PMID: 15692274]
- Anderson GD. Gender differences in pharmacological response. *Int Rev Neurobiol*. 2008; 83:1-10. [PMID: 18929073]
- Ansell J. Making the most of statins: risks and benefits of bringing blockbusters into new arenas. *PharmaWeek* Nov. 14, 2005. Disponible en: http://www.pharmaweek.com/ExclusiveContent/11_14.asp (accedido el 10 de abril de 2009).
- Aoki T, Nishimura H, Nakagawa S, Kojima J, Suzuki H, Tamaki T, et al. Pharmacological profile of a novel synthetic inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *Arzneimittelforschung*. 1997; 47(8):904-9. [PMID: 9296275]
- Armitage J. The safety of statins in clinical practice. *Lancet*. 2007; 370(9601):1781-90. [PMID: 17559928]
- Aston CE, Ralph DA, Lalo DP, Manjeshwar S, Gramling BA, DeFreese DC et al. Oligogenic combinations associated with breast cancer risk in women under 53 years of age. *Hum Genet*. 2005; 116(3):208-21. [PMID: 15611867]
- Avigan J, Steinberg D, Vroman HE, Thompson MJ, Mosettig E. Studies of cholesterol biosynthesis. I. The identification of desmosterol in serum and tissues of animals and man treated with MER-29. *J Biol Chem*. 1960; 235:3123-6. [PMID: 13685286]
- Avigan J, Steinberg D. Deposition of desmosterol in the lesions of experimental atherosclerosis. *Lancet*. 1962; 1(7229):572. [PMID: 13863404]
- Aylor DL, Zeng ZB. From classical genetics to quantitative genetics to systems biology: modeling epistasis. *PLoS Genet*. 2008; 4(3):e1000029. [PMID: 18369448]
- Backes JM, Howard PA. Association of HMG-CoA reductase inhibitors with neuropathy. *Ann Pharmacother*. 2003; 37(2):274-8. Review. [PMID: 12549960]
- Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, Kirby A, et al; Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*. 2005; 366(9493):1267-78. Erratum in: *Lancet*. 2008; 371(9630):2084. *Lancet*. 2005; 366(9494):1358. [PMID: 16214597]
- Balaz S. Modeling kinetics of subcellular disposition of chemicals. *Chem Rev*. 2009; 109(5):1793-899. [PMID: 19265398]
- Balding DJ. A tutorial on statistical methods for population association studies. *Nat Rev Genet*. 2006; 7(10):781-91. [PMID: 16983374]

- Ballantyne CM, Herd JA, Stein EA, Ferlic LL, Dunn JK, Gotto AM Jr, Marian AJ. Apolipoprotein E genotypes and response of plasma lipids and progression-regression of coronary atherosclerosis to lipid-lowering drug therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 36(5):1572-8. [PMID: 11079660]
- Basso F, Lowe GD, Rumley A, McMahon AD, Humphries SE. Interleukin-6 -174G>C polymorphism and risk of coronary heart disease in West of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002; 22(4):599-604. [PMID: 11950697]
- Bateson W. *Mendel's Principles of Heredity* (Cambridge Univ. Press. Cambridge, 1909).
- Becker ML, Visser LE, van Schaik RH, Hofman A, Uitterlinden AG, Stricker BH. Common genetic variation in the ABCB1 gene is associated with the cholesterol-lowering effect of simvastatin in males. *Pharmacogenomics*. 2009; 10(11):1743-51. [PMID: 19891551]
- Beglinger C. Effect of cholecystokinin on gastric motility in humans. *Ann N Y Acad Sci*. 1994; 713:219-25. [PMID: 8185162]
- Beige J, Engeli S, Ringel J, Offermann G, Distler A, Sharma AM. Donor G protein beta3 subunit 825TT genotype is associated with reduced kidney allograft survival. *J Am Soc Nephrol*. 1999; 10(8):1717-21. [PMID: 10446939]
- Bercovich D, Friedlander Y, Korem S, Houminer A, Hoffman A, Kleinberg L, et al. The association of common SNPs and haplotypes in the CETP and MDR1 genes with lipids response to fluvastatin in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2006; 185(1):97-107. [PMID: 16002074]
- Berger SI, Iyengar R. Network analyses in systems pharmacology. *Bioinformatics*. 2009; 25(19):2466-72. [PMID:19648136]
- Berglund L, Wiklund O, Eggertsen G, Olofsson SO, Eriksson M, Lindén T, et al. Apolipoprotein E phenotypes in familial hypercholesterolaemia: importance for expression of disease and response to therapy. *J Intern Med*. 1993; 233(2):173-8. [PMID: 8433078]
- Berry DA, Berry SM, McKellar J, Pearson TA. Comparison of the dose-response relationships of 2 lipid-lowering agents: a Bayesian meta-analysis. *Am Heart J*. 2003; 145(6):1036-45. [PMID: 12796760]
- Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C, La Du BN. Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos*. 2000; 28(11):1335-42. [PMID: 11038162]
- Blohm TR, Mackenzie RD. Specific inhibition of cholesterol biosynthesis by a synthetic compound (MER-29). *Arch Biochem Biophys*. 1959; 85:245-9. [PMID: 13801564]
- Boekholdt SM, Agema WR, Peters RJ, Zwinderman AH, van der Wall EE, Reitsma PH, et al., REGression GRowth Evaluation Statin Study Group. Variants of toll-like receptor 4 modify the efficacy of statin therapy and the risk of cardiovascular events. *Circulation*. 2003; 107(19):2416-21. [PMID: 12742999]
- Boekholdt SM, Sacks FM, Jukema JW, Shepherd J, Freeman DJ, McMahon AD, et al. Cholesteryl ester transfer protein TaqIB variant, high-density lipoprotein cholesterol levels, cardiovascular risk, and efficacy of pravastatin treatment: individual patient meta-analysis of 13,677 subjects. *Circulation*. 2005; 111(3):278-87. [PMID: 15655129]
- Böger RH. Drug interactions of the statins and consequences for drug selection. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2001; 39(9):369-82. [PMID: 11563683]
- Bogman K, Peyer AK, Török M, Küsters E, Drewe J. HMG-CoA reductase inhibitors and P-glycoprotein modulation. *Br J Pharmacol*. 2001; 132(6):1183-92. [PMID: 11250868]
- Bondy B, Baghai TC, Zill P, Bottlender R, Jaeger M, Minov C, Schule C, Zwanzger P, Rupprecht R, Engel RR. Combined action of the ACE D- and the G-protein beta3 T-allele in major depression: a possible link to cardiovascular disease? *Mol Psychiatry*. 2002; 7(10):1120-6. [PMID: 12476328]
- Branicki W, Brudnik U, Wojas-Pelc A. Interactions between HERC2, OCA2 and MC1R may influence human pigmentation phenotype. *Ann Hum Genet*. 2009; 73(2):160-70. [PMID: 19208107]
- Bray PF, Cannon CP, Goldschmidt-Clermont P, Moyé LA, Pfeffer MA, Sacks FM, Braunwald E. The platelet PI(A2) and angiotensin-converting enzyme (ACE) D allele polymorphisms and the risk of recurrent events after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 2001; 88(4):347-52. [PMID: 11545752]
- Brisson D, St-Pierre J, Santuré M, Hudson TJ, Després JP, Vohl MC, Gaudet D. Genetic epistasis in the VLDL catabolic pathway is associated with deleterious variations on triglyceridemia in obese subjects. *Int J Obes (Lond)*. 2007; 31(8):1325-33. [PMID: 17342071]
- Brorholt-Petersen JU, Jensen HK, Raungaard B, Gregersen N, Faergeman O. LDL-receptor gene mutations and the hypocholesterolemic response to statin therapy. *Clin Genet*. 2001; 59(6):397-405. [PMID: 11453971]
- Brown AG, Smale TC, King TJ, Hasenkamp R, Thompson RH. Crystal and molecular structure of compactin, a new antifungal metabolite from *Penicillium brevicompactum*. *J Chem Soc [Perkin 1]*. 1976; (11):1165-70. [PMID: 945291]
- Buettner C, Lecker SH. Molecular basis for statin-induced muscle toxicity: implications and possibilities. *Pharmacogenomics*. 2008; 9(8):1133-42. [PMID: 18681786]
- Cabrera-Vera TM, Vanhauwe J, Thomas TO, Medkova M, Preininger A, Mazzoni MR, Hamm HE. Insights into G protein structure, function, and regulation. *Endocr Rev*. 2003; 24(6):765-81. [PMID: 14671004]
- Camilleri M, Busciglio I, Carlson P, McKinzie S, Burton D, Baxter K, Ryks M, Zinsmeister AR. Candidate genes and sensory functions in health and irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008; 295(2):G219-25. [PMID: 18511740]
- Carbonell T, Freire E. Binding thermodynamics of statins to HMG-CoA reductase. *Biochemistry*. 2005; 44(35):11741-8. [PMID: 16128575]
- Carlquist JF, Muhlestein JB, Horne BD, Hart NI, Bair TL, Molhuizen HO, Anderson JL. The cholesteryl ester transfer protein Taq1B gene polymorphism predicts clinical benefit of statin therapy in

- patients with significant coronary artery disease. *Am Heart J.* 2003; 146(6):1007-14. [PMID: 14660992]
- Carmena R, Roederer G, Mailloux H, Lussier-Cacan S, Davignon J. The response to lovastatin treatment in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia is modulated by apolipoprotein E polymorphism. *Metabolism.* 1993; 42(7):895-901. [PMID: 8345800]
- Carrasquillo MM, McCallion AS, Puffenberger EG, Kashuk CS, Nouri N, Chakravarti A. Genome-wide association study and mouse model identify interaction between RET and EDNRB pathways in Hirschsprung disease. *Nat Genet.* 2002; 32(2):237-44. [PMID: 12355085]
- Chanda P, Zhang A, Brazeau D, Sucheston L, Freudenheim JL, Ambrosone C, Ramanathan M. Information-theoretic metrics for visualizing gene-environment interactions. *Am J Hum Genet.* 2007; 81(5):939-63. [PMID: 17924337]
- Charasson V, Bellott R, Meynard D, Longy M, Gorry P, Robert J. Pharmacogenetics of human carboxylesterase 2, an enzyme involved in the activation of irinotecan into SN-38. *Clin Pharmacol Ther.* 2004; 76(6):528-35. [PMID: 15592324]
- Chasman DI, Posada D, Subrahmanyam L, Cook NR, Stanton VP Jr, Ridker PM. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. *JAMA.* 2004; 291(23):2821-7. [PMID: 15199031]
- Chaves FJ, Real JT, García-García AB, Civera M, Armengod ME, Ascaso JF, Carmena R. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia in a South European outbred population: influence of low-density lipoprotein (LDL) receptor gene mutations on treatment response to simvastatin in total, LDL, and high-density lipoprotein cholesterol. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(10):4926-32. [PMID: 11600564]
- Chen ML, Lee SC, Ng MJ, Schuirmann DJ, Lesko LJ, Williams RL. Pharmacokinetic analysis of bioequivalence trials: implications for sex-related issues in clinical pharmacology and biopharmaceutics. *Clin Pharmacol Ther.* 2000; 68(5):510-21. [PMID: 11103754]
- Chen S, Tsybouleva N, Ballantyne CM, Gotto AM Jr, Marian AJ. Effects of PPARalpha, gamma and delta haplotypes on plasma levels of lipids, severity and progression of coronary atherosclerosis and response to statin therapy in the lipoprotein coronary atherosclerosis study. *Pharmacogenetics.* 2004; 14(1):61-71. [PMID: 15128052]
- Chen C, Mireles RJ, Campbell SD, Lin J, Mills JB, Xu JJ, Smolarek TA. Differential interaction of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coa reductase inhibitors with ABCB1, ABCC2, and OATP1B1. *Drug Metab Dispos.* 2005a; 33(4):537-46. [PMID: 15616150]
- Chen SN, Ballantyne CM, Gotto AM Jr, Tan Y, Willerson JT, Marian AJ. A common PCSK9 haplotype, encompassing the E670G coding single nucleotide polymorphism, is a novel genetic marker for plasma low-density lipoprotein cholesterol levels and severity of coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2005b; 45(10):1611-9. [PMID: 15893176]
- Cheng H, Rogers JD, Sweany AE, Dobrinska MR, Stein EA, Tate AC, Amin RD, Quan H. Influence of age and gender on the plasma profiles of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitory activity following multiple doses of lovastatin and simvastatin. *Pharm Res.* 1992; 9(12):1629-33. [PMID: 1488408]
- Cheung BM, Lauder IJ, Lau CP, Kumana CR. Meta-analysis of large randomized controlled trials to evaluate the impact of statins on cardiovascular outcomes. *Br J Clin Pharmacol.* 2004; 57(5):640-51. [PMID: 15089818]
- Chida M, Yokoi T, Fukui T, Kinoshita M, Yokota J, Kamataki T. Detection of three genetic polymorphisms in the 5'-flanking region and intron 1 of human CYP1A2 in the Japanese population. *Jpn J Cancer Res.* 1999; 90(9):899-902. [PMID: 10551315]
- Chiodini BD, Franzosi MG, Barlera S, Signorini S, Lewis CM, D'Orazio A, et al., GISSI Investigators; SIBioC-GISSI Prevenzione Group. Apolipoprotein E polymorphisms influence effect of pravastatin on survival after myocardial infarction in a Mediterranean population: the GISSI-Prevenzione study. *Eur Heart J.* 2007; 28(16):1977-83. [PMID: 17567623]
- Cho JH, Nicolae DL, Gold LH, Fields CT, LaBuda MC, Rohal PM et al. Identification of novel susceptibility loci for inflammatory bowel disease on chromosomes 1p, 3q, and 4q: evidence for epistasis between 1p and IBD1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95(13):7502-7. [PMID: 9636179]
- Choi JH, Lee MG, Cho JY, Lee JE, Kim KH, Park K. Influence of OATP1B1 genotype on the pharmacokinetics of rosuvastatin in Koreans. *Clin Pharmacol Ther.* 2008; 83(2):251-7. [PMID: 17568401]
- Chong PH, Boskovich A, Stevkovic N, Bartt RE. Statin-associated peripheral neuropathy: review of the literature. *Pharmacotherapy.* 2004; 24(9):1194-203. [PMID: 15460180]
- Christians U, Jacobsen W, Floren LC. Metabolism and drug interactions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in transplant patients: are the statins mechanistically similar? *Pharmacol Ther.* 1998; 80(1):1-34. [PMID: 9804052]
- Christidis DS, Liberopoulos EN, Kakafika AI, Miltiados GA, Cariolou M, Ganotakis ES, et al. The effect of apolipoprotein E polymorphism on the response to lipid-lowering treatment with atorvastatin or fenofibrate. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2006; 11(3):211-21. [PMID: 17056835]
- Christidis DS, Liberopoulos EN, Kakafika AI, Miltiados GA, Liamis GL, Kakaidi B, et al. Effect of paraoxonase 1 polymorphisms on the response of lipids and lipoprotein-associated enzymes to treatment with fluvastatin. *Arch Med Res.* 2007; 38(4):403-10. [PMID: 17416287]
- Chung JY, Cho JY, Yu KS, Kim JR, Oh DS, Jung HR, et al. Effect of OATP1B1 (SLCO1B1) variant alleles on the pharmacokinetics of pitavastatin in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2005; 78(4):342-50. [PMID: 16198653]
- Clayton DG. Prediction and interaction in complex disease genetics: experience in type 1 diabetes. *PLoS Genet.* 2009; 5(7):e1000540. [PMID: 19584936]

- Clayton DG. Prediction and interaction in complex disease genetics: experience in type 1 diabetes. *PLoS Genet.* 2009; 5(7):e1000540. [PMID: 19584936]
- Colombo S, Soranzo N, Rotger M, Sprenger R, Bleiber G, Buclin T, Goldstein D, Décosterd L, Telenti A; Swiss HIV Cohort Study. Influence of ABCB1, ABCC1, ABCC2, and ABCG2 haplotypes on the cellular exposure of nelfinavir in vivo. *Pharmacogenet Genomics.* 2005; 15(9):599-608. [PMID: 16041239]
- Cordell HJ, Todd JA, Bennett ST, Kawaguchi Y, Farrall M. Two-locus maximum lod score analysis of a multifactorial trait: joint consideration of IDDM2 and IDDM4 with IDDM1 in type 1 diabetes. *Am J Hum Genet.* 1995; 57(4):920-34. [PMID: 7573054]
- Corsini A, Belloc S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther.* 1999; 84(3):413-28. [PMID: 10665838]
- Cooke CE, Hammerash WJ Jr. Retrospective review of sex differences in the management of dyslipidemia in coronary heart disease: an analysis of patient data from a Maryland-based health maintenance organization. *Clin Ther.* 2006; 28(4):591-9. [PMID: 16750470]
- Couture P, Brun LD, Szots F, Lelièvre M, Gaudet D, Després JP, et al. Association of specific LDL receptor gene mutations with differential plasma lipoprotein response to simvastatin in young French Canadians with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; 18(6):1007-12. [PMID: 9633944]
- Cox NJ, Frigge M, Nicolae DL, Concannon P, Hanis CL, Bell GI, Kong A. Loci on chromosomes 2 (NIDDM1) and 15 interact to increase susceptibility to diabetes in Mexican Americans. *Nat Genet.* 1999; 21(2):213-5. [PMID: 9988276]
- Cronin S, Greenway MJ, Prehn JH, Hardiman O. Paraoxonase promoter and intronic variants modify risk of sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007; 78(9):984-6. [PMID: 17702780]
- Cvetkovic M, Leake B, Fromm MF, Wilkinson GR, Kim RB. OATP and P-glycoprotein transporters mediate the cellular uptake and excretion of fexofenadine. *Drug Metab Dispos.* 1999 Aug;27(8):866-71. [PMID: 10421612]
- Dai D, Tang J, Rose R, Hodgson E, Bienstock RJ, Mohrenweiser HW, Goldstein JA. Identification of variants of CYP3A4 and characterization of their abilities to metabolize testosterone and chlorpyrifos. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001; 299(3):825-31. [PMID: 11714865]
- Dale KM, Coleman CI, Shah SA, Patel AA, Kluger J, White CM. Impact of gender on statin efficacy. *Curr Med Res Opin.* 2007a; 23(3):565-74. [PMID: 17355737]
- Dale KM, White CM, Henyan NN, Kluger J, Coleman CI. Impact of statin dosing intensity on transaminase and creatine kinase. *Am J Med.* 2007b; 120(8):706-12. [PMID: 17679130]
- Dam, H. (1958) Historical introduction to cholesterol. In: *Chemistry, Biochemistry and Pathology* (R. P. Cook, ed.) pp. 1-14, Academic Press, New York, NY.
- Danhof M, de Jongh J, De Lange EC, Della Pasqua O, Ploeger BA, Voskuyl RA. Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling: biophase distribution, receptor theory, and dynamical systems analysis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2007; 47:357-400. [PMID: 17067280]
- Danhof M, de Lange EC, Della Pasqua OE, Ploeger BA, Voskuyl RA. Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) modeling in translational drug research. *Trends Pharmacol Sci.* 2008; 29(4):186-91. [PMID: 18353445]
- de Grooth GJ, Zerba KE, Huang SP, Tsuchihashi Z, Kirchgessner T, Belder R, et al. The cholesteryl ester transfer protein (CETP) TaqIB polymorphism in the cholesterol and recurrent events study: no interaction with the response to pravastatin therapy and no effects on cardiovascular outcome: a prospective analysis of the CETP TaqIB polymorphism on cardiovascular outcome and interaction with cholesterol-lowering therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 43(5):854-7. [PMID: 14998629]
- De Knijff P, Stalenhoef AF, Mol MJ, Gevers Leuven JA, Smit J, Erkelens DW, et al. Influence of apo E polymorphism on the response to simvastatin treatment in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 1990; 83(1):89-97. [PMID: 2390138]
- de Maat MP, Kastelein JJ, Jukema JW, Zwinderman AH, Jansen H, Groenemeier B, et al. -455G/A polymorphism of the beta-fibrinogen gene is associated with the progression of coronary atherosclerosis in symptomatic men: proposed role for an acute-phase reaction pattern of fibrinogen. REGRESS group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; 18(2):265-71. Review. [PMID: 9484992]
- de Maat MP, Jukema JW, Ye S, Zwinderman AH, Moghaddam PH, Beekman M, et al. Effect of the stromelysin-1 promoter on efficacy of pravastatin in coronary atherosclerosis and restenosis. *Am J Cardiol.* 1999; 83(6):852-6. [PMID: 10190398]
- de Vries DR, ter Linde JJ, van Herwaarden MA, Smout AJ, Samsom M. Gastroesophageal reflux disease is associated with the C825T polymorphism in the G-protein beta3 subunit gene (GNB3). *Am J Gastroenterol.* 2009; 104(2):281-5. [PMID: 19174793]
- Dempfle A, Scherag A, Hein R, Beckmann L, Chang-Claude J, Schäfer H. Gene-environment interactions for complex traits: definitions, methodological requirements and challenges. *Eur J Hum Genet.* 2008; 16(10):1164-72. [PMID: 18523454]
- Deng JW, Song IS, Shin HJ, Yeo CW, Cho DY, Shon JH, Shin JG. The effect of SLCO1B1*15 on the disposition of pravastatin and pitavastatin is substrate dependent: the contribution of transporting activity changes by SLCO1B1*15. *Pharmacogenet Genomics.* 2008; 18(5):424-33. [PMID: 18408565]
- Dietschy JM, Wilson JD. Regulation of cholesterol metabolism. I. *N Engl J Med.* 1970; 282(20):1128-38. [PMID: 4985759]

- Dobson PD, Kell DB. Carrier-mediated cellular uptake of pharmaceutical drugs: an exception or the rule? *Nat Rev Drug Discov.* 2008; 7(3):205-20. [PMID: 18309312]
- Dorajoo R, Pereira BP, Yu Z, Gopalakrishnakone P, Leong CC, Wee A, Lee E. Role of multi-drug resistance-associated protein-1 transporter in statin-induced myopathy. *Life Sci.* 2008; 82(15-16):823-30. [PMID: 18509883]
- Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS, La Du BN. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *J Biol Chem.* 2000; 275(43):33435-42. [PMID: 10931838]
- Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, La Du BN. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res.* 2005; 46(6):1239-47. [PMID: 15772423]
- Draganov DI. Human PON3, effects beyond the HDL: clues from human PON3 transgenic mice. *Circ Res.* 2007; 100(8):1104-5. [PMID: 17463324]
- Dufresne M, Seva C, Fourmy D. Cholecystokinin and gastrin receptors. *Physiol Rev.* 2006; 86(3):805-47. [PMID: 16816139]
- Dupre DJ, Robitaille M, Rebois RV, Hébert TE. The role of Gbetagamma subunits in the organization, assembly, and function of GPCR signaling complexes. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2009; 49:31-56. [PMID: 18834311]
- Elghannam H, Tavackoli S, Ferlic L, Gotto AM Jr, Ballantyne CM, Marian AJ. A prospective study of genetic markers of susceptibility to infection and inflammation, and the severity, progression, and regression of coronary atherosclerosis and its response to therapy. *J Mol Med.* 2000; 78(10):562-8. [PMID: 11199329]
- EMA. CPMP/EWP/QWP/1401/98. Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. July 2001. Disponible en: <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ewp/140198en.pdf> (accedido el 04 de abril de 2009).
- Endo A, Kuroda M. Citrinin, an inhibitor of cholesterol synthesis. *J Antibiot (Tokyo).* 1976a; 29(8):841-3. [PMID: 791911]
- Endo A, Kuroda M, Tsujita Y. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterol synthesis produced by *Penicillium citrinum*. *J Antibiot (Tokyo).* 1976b; 29(12):1346-8. [PMID: 1010803]
- Endo A. Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. *J Antibiot (Tokyo).* 1979; 32(8):852-4. [PMID: 500505]
- Endo A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J Lipid Res.* 1992; 33(11):1569-82. [PMID: 1464741]
- Endo A. The origin of the statins - 2004. *Atheroscler Suppl.* 2004; 5(3):125-30. [PMID: 15531285]
- Espie P, Tytgat D, Sargentini-Maier ML, Poggesi I, Watelet JB. Physiologically based pharmacokinetics (PBPK). *Drug Metab Rev.* 2009; 41(3):391-407. [PMID: 19601719]
- Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med.* 2003; 348(6):538-49. [PMID: 12571262]
- Everett DW, Chando TJ, Didonato GC, Singhvi SM, Pan HY, Weinstein SH. Biotransformation of pravastatin sodium in humans. *Drug Metab Dispos.* 1991; 19(4):740-8. [PMID: 1680649]
- Faloutsos DW, Urien S, Carreau V, Chauvenet M, Hulot JS, Giral P, et al. Use of an indirect effect model to describe the LDL cholesterol-lowering effect by statins in hypercholesterolaemic patients. *Fundam Clin Pharmacol.* 2006; 20(3):321-30. [PMID: 16671968]
- Fan YM, Laaksonen R, Janatuinen T, Vesalainen R, Nuutila P, Knuuti J, Lehtimäki T. Effects of pravastatin therapy on serum lipids and coronary reactivity are not associated with SREBP cleavage-activating protein polymorphism in healthy young men. *Clin Genet.* 2001; 60(4):319-21. [PMID: 11683781]
- Fan L, Zhang W, Guo D, Tan ZR, Xu P, Li Q, et al. The effect of herbal medicine baicalin on pharmacokinetics of rosuvastatin, substrate of organic anion-transporting polypeptide 1B1. *Clin Pharmacol Ther.* 2008; 83(3):471-6. [PMID: 17851565]
- FDA. Guideline for the Study and Evaluation of Gender Differences in the Clinical Evaluation of Drugs. July 1993. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/UCM126835.pdf> (accedido el 18 de enero de 2010).
- FDA. Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products - General Considerations. July 2002. Disponible en: <http://www.fda.gov/cder/guidance/4964dft.pdf> (accedido el 4 de abril de 2009).
- Fiegenbaum M, da Silveira FR, Van der Sand CR, Van der Sand LC, Ferreira ME, Pires RC, Hutz MH. Pharmacogenetic study of apolipoprotein E, cholesteryl ester transfer protein and hepatic lipase genes and simvastatin therapy in Brazilian subjects. *Clin Chim Acta.* 2005a; 362(1-2):182-8. [PMID: 16038892]
- Fiegenbaum M, da Silveira FR, Van der Sand CR, Van der Sand LC, Ferreira ME, Pires RC, Hutz MH. The role of common variants of ABCB1, CYP3A4, and CYP3A5 genes in lipid-lowering efficacy and safety of simvastatin treatment. *Clin Pharmacol Ther.* 2005b; 78(5):551-8. [PMID: 16321621]
- Fisher RA. The correlations between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. *Trans R Soc Edinb* 1918; 52: 399-433.
- Fleming CD, Bencharit S, Edwards CC, Hyatt JL, Tsurkan L, Bai F, Fraga C, Morton CL, Howard-Williams EL, Potter PM, Redinbo MR. Structural insights into drug processing by human carboxylesterase 1: tamoxifen, mevastatin, and inhibition by benzil. *J Mol Biol.* 2005; 352(1):165-77. [PMID: 16081098]
- Fouchier SW, Defesche JC. Sterol-regulatory element-binding protein-2-11g>t variant affects cholesterol levels and efficacy of statin treatment. Presented at the American Heart Association's Scientific Sessions 2003, November 11: 20. [PMID: N.D.]

- Franke RM, Scherkenbach LA, Sparreboom A. Pharmacogenetics of the organic anion transporting polypeptide 1A2. *Pharmacogenomics*. 2009; 10(3):339-44. [PMID: 19290786]
- Freeman DJ, Samani NJ, Wilson V, McMahon AD, Braund PS, Cheng S, et al. A polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein gene predicts cardiovascular events in non-smokers in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Eur Heart J*. 2003; 24(20):1833-42. [PMID: 14563342]
- Fujino H, Yamada I, Shimada S, Yoneda M, Kojima J. Metabolic fate of pitavastatin, a new inhibitor of HMG-CoA reductase: human UDP-glucuronosyltransferase enzymes involved in lactonization. *Xenobiotica*. 2003; 33(1):27-41. [PMID: 12519692]
- Fujino H, Saito T, Tsunenari Y, Kojima J, Sakaeda T. Metabolic properties of the acid and lactone forms of HMG-CoA reductase inhibitors. *Xenobiotica*. 2004; 34(11-12):961-71. [PMID: 15801541]
- Fujino H, Saito T, Ogawa S, Kojima J. Transporter-mediated influx and efflux mechanisms of pitavastatin, a new inhibitor of HMG-CoA reductase. *J Pharm Pharmacol*. 2005; 57(10):1305-11. [PMID: 16259759]
- Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Watanabe H, Shiseki K, Saeki M, Nakamura T, et al. Haplotypes of CYP3A4 and their close linkage with CYP3A5 haplotypes in a Japanese population. *Hum Mutat*. 2004; 23(1):100. [PMID: 14695543]
- García MJ, Reinoso RF, Sánchez Navarro A, Prous JR. Clinical pharmacokinetics of statins. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2003; 25(6):457-81. [PMID: 12949632]
- García-Otín AL, Civeira F, Aristegui R, Díaz C, Recalde D, Sol JM, et al., ATOMIX Study Group. Atorvastatin in Mixed dyslipidemia. Allelic polymorphism -491A/T in apo E gene modulates the lipid-lowering response in combined hyperlipidemia treatment. *Eur J Clin Invest*. 2002; 32(6):421-8. [PMID: 12059987]
- Gautam N, Downes GB, Yan K, Kisselev O. The G-protein betagamma complex. *Cell Signal*. 1998; 10(7):447-55. [PMID: 9754712]
- Geisel J, Kivistö KT, Griesse EU, Eichelbaum M. The efficacy of simvastatin is not influenced by CYP2D6 polymorphism. *Clin Pharmacol Ther*. 2002; 72(5):595-6. [PMID: 12426523]
- Gerdes LU, Gerdes C, Kervinen K, Savolainen M, Klausen IC, Hansen PS, et al. The apolipoprotein epsilon4 allele determines prognosis and the effect on prognosis of simvastatin in survivors of myocardial infarction: a substudy of the Scandinavian simvastatin survival study. *Circulation*. 2000; 101(12):1366-71. [PMID: 10736278]
- Ghotbi R, Christensen M, Roh HK, Ingelman-Sundberg M, Aklilu E, Bertilsson L. Comparisons of CYP1A2 genetic polymorphisms, enzyme activity and the genotype-phenotype relationship in Swedes and Koreans. *Eur J Clin Pharmacol*. 2007; 63(6):537-46. [PMID: 17370067]
- Gibson DM, Bron NJ, Richens A, Hounslow NJ, Sedman AJ, Whitfield LR. Effect of age and gender on pharmacokinetics of atorvastatin in humans. *J Clin Pharmacol*. 1996; 36(3):242-6. [PMID: 8690818]
- Goff DC Jr, Bertoni AG, Kramer H, Bonds D, Blumenthal RS, Tsai MY, Psaty BM. Dyslipidemia prevalence, treatment, and control in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA): gender, ethnicity, and coronary artery calcium. *Circulation*. 2006; 113(5):647-56. [PMID: 16461837]
- Goldstein DB, Tate SK, Sisodiya SM. Pharmacogenetics goes genomic. *Nat Rev Genet*. 2003; 4(12):937-47. Erratum in: *Nat Rev Genet*. 2004; 5(1):76. [PMID: 14631354]
- Goldstein DB. The genetics of human drug response. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2005; 360(1460):1571-2. [PMID: 16096105]
- Goldstein DB, Need AC, Singh R, Sisodiya SM. Potential genetic causes of heterogeneity of treatment effects. *Am J Med*. 2007; 120(4 Suppl 1):S21-5. [PMID: 17403378]
- Goodarzi MO, Taylor KD, Scheuner MT, Antoine HJ, Guo X, Shah PK, Rotter JJ. Haplotypes in the lipoprotein lipase gene influence high-density lipoprotein cholesterol response to statin therapy and progression of atherosclerosis in coronary artery bypass grafts. *Pharmacogenomics J*. 2007; 7(1):66-73. [PMID: 16755277]
- Goosen TC, Bauman JN, Davis JA, Yu C, Hurst SI, Williams JA, Loi CM. Atorvastatin glucuronidation is minimally and nonselectively inhibited by the fibrates gemfibrozil, fenofibrate, and fenofibric acid. *Drug Metab Dispos*. 2007; 35(8):1315-24. [PMID: 17470524]
- Gould AL, Rossouw JE, Santanello NC, Heyse JF, Furberg CD. Cholesterol reduction yields clinical benefit: impact of statin trials. *Circulation*. 1998; 97(10):946-52. [PMID: 9529261]
- Grabarkiewicz T, Grobelny P, Hoffmann M, Mielcarek J. DFT study on hydroxy acid-lactone interconversion of statins: The case of fluvastatin. *Org Biomol Chem*. 2006; 4(23):4299-306. [PMID: 17102875]
- Gray J. Why can't a woman be more like a man? *Clin Pharmacol Ther*. 2007; 82(1):15-7. [PMID: 17571069]
- Greenblatt DJ, von Moltke LL. Gender has a small but statistically significant effect on clearance of CYP3A substrate drugs. *J Clin Pharmacol*. 2008; 48(11):1350-5. [PMID: 18757784]
- Gregersen JW, Kranc KR, Ke X, Svendsen P, Madsen LS, Thomsen AR, Cardon LR, Bell JI, Fugger L. Functional epistasis on a common MHC haplotype associated with multiple sclerosis. *Nature*. 2006; 443(7111):574-7. [PMID: 17006452]
- Grube M, Köck K, Oswald S, Draber K, Meissner K, Eckel L, et al. Organic anion transporting polypeptide 2B1 is a high-affinity transporter for atorvastatin and is expressed in the human heart. *Clin Pharmacol Ther*. 2006; 80(6):607-20. [PMID: 17178262]
- Gudbjartsson DF, Arnar DO, Helgadóttir A, Gretarsdóttir S, Holm H, Sigurdsson A et al. Variants conferring risk of atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Nature*. 2007; 448(7151):353-7. [PMID: 17603472]
- Guerra P, Lubomirov R. Medicamentos genéricos y estudios de bioequivalencia (Cap 34). En: Govantes Estes C, editor. *Manual Normon*, 8 Ed. Madrid: Laboratorios Normon S.A., 2006.

- Gunes A, Dahl ML. Variation in CYP1A2 activity and its clinical implications: influence of environmental factors and genetic polymorphisms. *Pharmacogenomics*. 2008; 9(5):625-37. [PMID: 18466106]
- Gutersohn A, Naber C, Müller N, Erbel R, Siffert W. G protein beta3 subunit 825 TT genotype and post-pregnancy weight retention. *Lancet*. 2000; 355(9211): 1240-1. [PMID: 10770309]
- Guzmán EC, Hirata MH, Quintão EC, Hirata RD. Association of the apolipoprotein B gene polymorphisms with cholesterol levels and response to fluvastatin in Brazilian individuals with high risk for coronary heart disease. *Clin Chem Lab Med*. 2000; 38(8):731-6. [PMID: 11071065]
- Hagenbuch B, Gui C. Xenobiotic transporters of the human organic anion transporting polypeptides (OATP) family. *Xenobiotica*. 2008; 38(7-8):778-801. [PMID: 18668430]
- Hagenbuch B, Meier PJ. Organic anion transporting polypeptides of the OATP/ SLC21 family: phylogenetic classification as OATP/ SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/functional properties. *Pflugers Arch*. 2004; 447(5):653-65. [PMID: 14579113]
- Han XM, Ouyang DS, Chen XP, Shu Y, Jiang CH, Tan ZR, Zhou HH. Inducibility of CYP1A2 by omeprazole in vivo related to the genetic polymorphism of CYP1A2. *Br J Clin Pharmacol*. 2002; 54(5):540-3. [PMID: 12445035]
- Hasegawa M, Kusuhara H, Sugiyama D, Ito K, Ueda S, Endou H, Sugiyama Y. Functional involvement of rat organic anion transporter 3 (rOat3; Slc22a8) in the renal uptake of organic anions. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002; 300(3):746-53. [PMID: 11861777]
- Hatanaka T. Clinical pharmacokinetics of pravastatin: mechanisms of pharmacokinetic events. *Clin Pharmacokinet*. 2000; 39(6):397-412. [PMID: 11192473]
- Heath KE, Gudnason V, Humphries SE, Seed M. The type of mutation in the low density lipoprotein receptor gene influences the cholesterol-lowering response of the HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*. 1999; 143(1):41-54. [PMID: 10208479]
- Hedman M, Antikainen M, Holmberg C, Neuvonen M, Eichelbaum M, Kivistö KT, et al. Pharmacokinetics and response to pravastatin in paediatric patients with familial hypercholesterolaemia and in paediatric cardiac transplant recipients in relation to polymorphisms of the SLC01B1 and ABCB1 genes. *Br J Clin Pharmacol*. 2006; 61(6):706-15. [PMID: 16722833]
- Hengstenberg C, Schunkert H, Mayer B, Döring A, Löwel H, Hense HW, Fischer M, Riegger GA, Holmer SR. Association between a polymorphism in the G protein beta3 subunit gene (GNB3) with arterial hypertension but not with myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 2001; 49(4):820-7. [PMID: 11230982]
- Hermann M, Bogsrud MP, Molden E, Asberg A, Mohebi BU, Ose L, Retterstøl K. Exposure of atorvastatin is unchanged but lactone and acid metabolites are increased several-fold in patients with atorvastatin-induced myopathy. *Clin Pharmacol Ther*. 2006; 79(6):532-9. [PMID: 16765141]
- Hesselink DA, van Schaik RH, van der Heiden IP, van der Werf M, Gregoor PJ, Lindemans J, et al. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther*. 2003; 74(3):245-54. [PMID: 12966368]
- Himbergen TM, van Tits LJ, Voorbij HA, de Graaf J, Stalenhoef AF, Roest M. The effect of statin therapy on plasma high-density lipoprotein cholesterol levels is modified by paraoxonase-1 in patients with familial hypercholesterolaemia. *J Intern Med*. 2005; 258(5):442-9. [PMID: 16238680]
- Hirano M, Maeda K, Shitara Y, Sugiyama Y. Contribution of OATP2 (OATP1B1) and OATP8 (OATP1B3) to the hepatic uptake of pitavastatin in humans. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004; 311(1):139-46. [PMID: 15159445]
- Hirano M, Maeda K, Matsushima S, Nozaki Y, Kusuhara H, Sugiyama Y. Involvement of BCRP (ABCG2) in the biliary excretion of pitavastatin. *Mol Pharmacol*. 2005; 68(3):800-7. [PMID: 15955871]
- Ho RH, Tirona RG, Leake BF, Glaeser H, Lee W, Lemke CJ, et al. Drug and bile acid transporters in rosuvastatin hepatic uptake: function, expression, and pharmacogenetics. *Gastroenterology*. 2006; 130(6):1793-806. [PMID: 16697742]
- Ho RH, Choi L, Lee W, Mayo G, Schwarz UI, Tirona RG, et al. Effect of drug transporter genotypes on pravastatin disposition in European- and African-American participants. *Pharmacogenet Genomics*. 2007; 17(8):647-56. [PMID: 17622941]
- Hochman JH, Pudvah N, Qiu J, Yamazaki M, Tang C, Lin JH, Prueksaritanont T. Interactions of human P-glycoprotein with simvastatin, simvastatin acid, and atorvastatin. *Pharm Res*. 2004; 21(9):1686-91. [PMID: 15497697]
- Hofman MK, Princen HM, Zwinderman AH, Jukema JW. Genetic variation in the rate-limiting enzyme in cholesterol catabolism (cholesterol 7 α -hydroxylase) influences the progression of atherosclerosis and risk of new clinical events. *Clin Sci (Lond)*. 2005; 108(6):539-45. [PMID: 15707388]
- Holdgate GA, Ward WH, McTaggart F. Molecular mechanism for inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) reductase by rosuvastatin. *Biochem Soc Trans*. 2003; 31(Pt 3):528-31. Review. [PMID: 12773150]
- Holmes RS, Chan J, Cox LA, Murphy WJ, VandeBerg JL. Opossum carboxylesterases: sequences, phylogeny and evidence for CES gene duplication events predating the marsupial-eutherian common ancestor. *BMC Evol Biol*. 2008; 8:54. [PMID: 18289373]
- Hsiang B, Zhu Y, Wang Z, Wu Y, Sasseville V, Yang WP, Kirchgessner TG. A novel human hepatic organic anion transporting polypeptide (OATP2). Identification of a liver-specific human organic anion transporting polypeptide and identification of rat and human hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitor transporters. *J Biol Chem*. 1999; 274(52):37161-8. [PMID: 10601278]

- Hsiao DJ, Wu LS, Huang SY, Lin E. Weight loss and body fat reduction under sibutramine therapy in obesity with the C825T polymorphism in the GNB3 gene. *Pharmacogenet Genomics*. 2009; 19(9):730-3. [PMID: 19687782]
- Hubacek JA, Adamkova V, Prusikova M, Snejdrlova M, Hirschfeldova K, Lanska V, Ceska R, Vrablik M. Impact of apolipoprotein A5 variants on statin treatment efficacy. *Pharmacogenomics*. 2009; 10(6):945-50. [PMID: 19530961]
- Iakoubova OA, Tong CH, Chokkalingam AP, Rowland CM, Kirchgessner TG, Louie JZ, et al. Asp92Asn polymorphism in the myeloid IgA Fc receptor is associated with myocardial infarction in two disparate populations: CARE and WOSCOPS. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26(12):2763-8. [PMID: 17008591]
- Iakoubova OA, Tong CH, Rowland CM, Kirchgessner TG, Young BA, Arellano AR, et al. Association of the Trp719Arg polymorphism in kinesin-like protein 6 with myocardial infarction and coronary heart disease in 2 prospective trials: the CARE and WOSCOPS trials. *J Am Coll Cardiol*. 2008a; 51(4):435-43. [PMID: 18222353]
- Iakoubova OA, Sabatine MS, Rowland CM, Tong CH, Catanese JJ, Ranade K, et al. Polymorphism in KIF6 gene and benefit from statins after acute coronary syndromes: results from the PROVE IT-TIMI 22 study. *J Am Coll Cardiol*. 2008b; 51(4):449-55. [PMID: 18222355]
- Ide T, Sasaki T, Maeda K, Higuchi S, Sugiyama Y, Ieiri I. Quantitative Population Pharmacokinetic Analysis of Pravastatin Using an Enterohepatic Circulation Model Combined With Pharmacogenomic Information on SLCO1B1 and ABCG2 Polymorphisms. *J Clin Pharmacol*. 2009 Sep 23. [Epub ahead of print] [PMID: 19776292]
- Ieiri I, Suwannakul S, Maeda K, Uchimaru H, Hashimoto K, Kimura M, et al. SLCO1B1 (OATP1B1, an uptake transporter) and ABCG2 (BCRP, an efflux transporter) variant alleles and pharmacokinetics of pitavastatin in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther*. 2007; 82(5):541-7. [PMID: 17460607]
- Igel M, Arnold KA, Niemi M, Hofmann U, Schwab M, Lütjohann D, et al. Impact of the SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics and lipid-lowering efficacy of multiple-dose pravastatin. *Clin Pharmacol Ther*. 2006; 79(5):419-26. [PMID: 16678544]
- Ikeda S, Kurose K, Jinno H, Sai K, Ozawa S, Hasegawa R, Komamura K, Kotake T, et al. Functional analysis of four naturally occurring variants of human constitutive androstane receptor. *Mol Genet Metab*. 2005; 86(1-2):314-9. [PMID: 15990349]
- Ilveskoski E, Lehtimäki T, Laaksonen R, Janatuinen T, Vesalainen R, Nuutila P, et al. Improvement of myocardial blood flow by lipid-lowering therapy with pravastatin is modulated by apolipoprotein E genotype. *Scand J Clin Lab Invest*. 2007; 67(7):723-34. PMID: 17852827]
- Isaacs A, Aulchenko YS, Hofman A, Sijbrands EJ, Sayed-Tabatabaei FA, Klungel OH et al. Epistatic effect of cholesteryl ester transfer protein and hepatic lipase on serum high-density lipoprotein cholesterol levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(7):2680-7. [PMID: 17440012]
- Isaacsohn J, Zinny M, Mazzu A, Lettieri J, Heller AH. Influence of gender on the pharmacokinetics, safety, and tolerability of cerivastatin in healthy adults. *Eur J Clin Pharmacol*. 2001; 56(12):897-903. [PMID: 11317478]
- Ishikawa C, Ozaki H, Nakajima T, Ishii T, Kanai S, Anjo S et al. A frameshift variant of CYP2C8 was identified in a patient who suffered from rhabdomyolysis after administration of cerivastatin. *J Hum Genet*. 2004; 49(10):582-5. [PMID: 15365880]
- Istvan ES, Palnitkar M, Buchanan SK, Deisenhofer J. Crystal structure of the catalytic portion of human HMG-CoA reductase: insights into regulation of activity and catalysis. *EMBO J*. 2000a; 19(5):819-30. [PMID: 10698924]
- Istvan ES, Deisenhofer J. The structure of the catalytic portion of human HMG-CoA reductase. *Biochim Biophys Acta*. 2000b; 1529(1-3):9-18. [PMID: 11111074]
- Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science*. 2001; 292(5519):1160-4. [PMID: 11349148]
- Istvan E. Statin inhibition of HMG-CoA reductase: a 3-dimensional view. *Atheroscler Suppl*. 2003; 4(1):3-8. [PMID: 12714031]
- Ito MK. Effects of extensive and poor gastrointestinal metabolism on the pharmacodynamics of pravastatin. *J Clin Pharmacol*. 1998; 38(4):331-6. [PMID: 9590460]
- Iwai M, Suzuki H, Ieiri I, Otsubo K, Sugiyama Y. Functional analysis of single nucleotide polymorphisms of hepatic organic anion transporter OATP1B1 (OATP-C). *Pharmacogenetics*. 2004; 14(11):749-57. [PMID: 15564882]
- Jacobs D, Blackburn H, Higgins M, Reed D, Iso H, McMillan G, Neaton J, Nelson J, Potter J, Rifkind B, et al. Report of the Conference on Low Blood Cholesterol: Mortality Associations. *Circulation*. 1992 Sep; 86(3):1046-60. [PMID: 1355411]
- Jacobsen W, Kirchner G, Hallensleben K, Mancinelli L, Deters M, Hackbarth I, Benet LZ, Sewing KF, Christians U. Comparison of cytochrome P-450-dependent metabolism and drug interactions of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors lovastatin and pravastatin in the liver. *Drug Metab Dispos*. 1999a; 27(2):173-9. [PMID: 9929499]
- Jacobsen W, Kirchner G, Hallensleben K, Mancinelli L, Deters M, Hackbarth I, Baner K, Benet LZ, Sewing KF, Christians U. Small intestinal metabolism of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor lovastatin and comparison with pravastatin. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999b; 291(1):131-9. [PMID: 10490896]
- Jacobsen W, Kuhn B, Soldner A, Kirchner G, Sewing KF, Kollman PA, Benet LZ, Christians U. Lactonization is the critical first step in the disposition of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitor atorvastatin. *Drug Metab Dispos*. 2000; 28(11):1369-78. [PMID: 11038166]

- Jaffe CA, Turgeon DK, Lown K, Demott-Friberg R, Watkins PB. Growth hormone secretion pattern is an independent regulator of growth hormone actions in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002; 283(5):E1008-15. [PMID: 12376329]
- Jamei M, Dickinson GL, Rostami-Hodjegan A. A framework for assessing inter-individual variability in pharmacokinetics using virtual human populations and integrating general knowledge of physical chemistry, biology, anatomy, physiology and genetics: A tale of 'bottom-up' vs 'top-down' recognition of covariates. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2009; 24(1):53-75. [PMID: 19252336]
- Javorský M, Gasperíková D, Ukropec J, Sedláková B, Riečanský I, Krizanová O, et al. Lipoprotein lipase HindIII polymorphism influences HDL-cholesterol levels in statin-treated patients with coronary artery disease. *Wien Klin Wochenschr*. 2007; 119(15-16):476-82. [PMID: 17721767]
- Jeenah M, September W, Graadt van Roggen F, de Villiers W, Seftel H, Marais D. Influence of specific mutations at the LDL-receptor gene locus on the response to simvastatin therapy in Afrikaner patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*. 1993; 98(1):51-8. [PMID: 8457250]
- Jones HM, Gardner IB, Watson KJ. Modelling and PBPK simulation in drug discovery. *AAPS J*. 2009; 11(1):155-66. [PMID: 19280352]
- Joy TR, Hegele RA. Narrative review: statin-related myopathy. *Ann Intern Med*. 2009; 150(12):858-68. [PMID: 19528564]
- Jukema JW, van Boven AJ, Groenemeijer B, Zwinderman AH, Reiber JH, Bruschke AV, et al. The Asp9 Asn mutation in the lipoprotein lipase gene is associated with increased progression of coronary atherosclerosis. REGRESS Study Group, Interuniversity Cardiology Institute, Utrecht, The Netherlands. Regression Growth Evaluation Statin Study. *Circulation*. 1996; 94(8):1913-8. [PMID: 8873668]
- Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta*. 1976; 455(1):152-62. [PMID: 990323]
- Kajinami K, Yagi K, Higashikata T, Inazu A, Koizumi J, Mabuchi H. Low-density lipoprotein receptor genotype-dependent response to cholesterol lowering by combined pravastatin and cholestyramine in familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 1998; 82(1):113-7. [PMID: 9671018]
- Kajinami K, Takekoshi N, Saito Y. Pitavastatin: efficacy and safety profiles of a novel synthetic HMG-CoA reductase inhibitor. *Cardiovasc Drug Rev*. 2003; 21(3):199-215. [PMID: 12931254]
- Kajinami K, Brousseau ME, Ordovas JM, Schaefer EJ. CYP3A4 genotypes and plasma lipoprotein levels before and after treatment with atorvastatin in primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2004a; 93(1):104-7. [PMID: 14697480]
- Kajinami K, Brousseau ME, Ordovas JM, Schaefer EJ. Polymorphisms in the multidrug resistance-1 (MDR1) gene influence the response to atorvastatin treatment in a gender-specific manner. *Am J Cardiol*. 2004b; 93(8):1046-50. [PMID: 15081455]
- Kajinami K, Brousseau ME, Nartsupha C, Ordovas JM, Schaefer EJ. ATP binding cassette transporter G5 and G8 genotypes and plasma lipoprotein levels before and after treatment with atorvastatin. *J Lipid Res*. 2004c; 45(4):653-6. [PMID: 14703505]
- Kajinami K, Brousseau ME, Ordovas JM, Schaefer EJ. Interactions between common genetic polymorphisms in ABCG5/G8 and CYP7A1 on LDL cholesterol-lowering response to atorvastatin. *Atherosclerosis*. 2004d; 175(2):287-93. [PMID: 15262185]
- Kajinami K, Brousseau ME, Lamon-Fava S, Ordovas JM, Schaefer EJ. Gender-specific effects of estrogen receptor alpha gene haplotype on high-density lipoprotein cholesterol response to atorvastatin: interaction with apolipoprotein AI gene polymorphism. *Atherosclerosis*. 2005a; 178(2):331-8. [PMID: 15694942]
- Kajinami K, Brousseau ME, Ordovas JM, Schaefer EJ. A promoter polymorphism in cholesterol 7alpha-hydroxylase interacts with apolipoprotein E genotype in the LDL-lowering response to atorvastatin. *Atherosclerosis*. 2005b; 180(2):407-15. [PMID: 15910869]
- Kalow W, Tang BK, Endrenyi L. Hypothesis: comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics*. 1998; 8(4):283-9. [PMID: 9731714]
- Kameyama Y, Yamashita K, Kobayashi K, Hosokawa M, Chiba K. Functional characterization of SLCO1B1 (OATP-C) variants, SLCO1B1*5, SLCO1B1*15 and SLCO1B1*15+C1007G, by using transient expression systems of HeLa and HEK293 cells. *Pharmacogenet Genomics*. 2005; 15(7):513-22. [PMID: 15970799]
- Kang YS, Park SY, Yim CH, Kwak HS, Gajendrarao P, Krishnamoorthy N, Yun SC, Lee KW, Han KO. The CYP3A4*18 genotype in the cytochrome P450 3A4 gene, a rapid metabolizer of sex steroids, is associated with low bone mineral density. *Clin Pharmacol Ther*. 2009; 85(3):312-8. [PMID: 19020497]
- Karayan L, Qiu S, Betard C, Dufour R, Roederer G, Minnich A, et al. Response to HMG CoA reductase inhibitors in heterozygous familial hypercholesterolemia due to the 10-kb deletion ("French Canadian mutation") of the LDL receptor gene. *Arterioscler Thromb*. 1994; 14(8):1258-63. [PMID: 8049186]
- Karlsen TH, Lie BA, Frey Frøslie K, Thorsby E, Broomé U, Schrumpf E, Boberg KM. Polymorphisms in the steroid and xenobiotic receptor gene influence survival in primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology*. 2006; 131(3):781-7. [PMID: 16952547]
- Karp I, Chen SF, Pilote L. Sex differences in the effectiveness of statins after myocardial infarction. *CMAJ*. 2007; 176(3):333-8. [PMID: 17261830]
- Keller TH, Pichota A, Yin Z. A practical view of 'druggability'. *Curr Opin Chem Biol*. 2006; 10(4):357-61. [PMID: 16814592]

- Kendrach MG, Kelly-Freeman M. Approximate equivalent rosuvastatin doses for temporary statin interchange programs. *Ann Pharmacother*. 2004; 38(7-8):1286-92. [PMID: 15187217]
- Kendrick M. Are statins overused? *Future Lipidology* 2007; 2(5):481-483. [PMID: N.D.]
- Keskitalo JE, Zolk O, Fromm MF, Kurkinen KJ, Neuvonen PJ, Niemi M. ABCG2 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther*. 2009a; 86(2):197-203. [PMID: 19474787]
- Keskitalo JE, Kurkinen KJ, Neuvonen M, Backman JT, Neuvonen PJ, Niemi M. No significant effect of ABCB1 haplotypes on the pharmacokinetics of fluvastatin, pravastatin, lovastatin, and rosuvastatin. *Br J Clin Pharmacol*. 2009b; 68(2):207-13. [PMID: 19694740]
- Keskitalo JE, Pasanen MK, Neuvonen PJ, Niemi M. Different effects of the ABCG2 c.421C>A SNP on the pharmacokinetics of fluvastatin, pravastatin and simvastatin. *Pharmacogenomics*. 2009c; 10(10):1617-24. [PMID: 19842935]
- Khamdang S, Takeda M, Shimoda M, Noshiro R, Narikawa S, Huang XL, et al. Interactions of human- and rat-organic anion transporters with pravastatin and cimetidine. *J Pharmacol Sci*. 2004; 94(2):197-202. [PMID: 14978359]
- Kim RB, Wandel C, Leake B, Cvetkovic M, Fromm MF, Dempsey PJ, et al. Interrelationship between substrates and inhibitors of human CYP3A and P-glycoprotein. *Pharm Res*. 1999; 16(3):408-14. [PMID: 10213372]
- Kim KA, Park PW, Lee OJ, Kang DK, Park JY. Effect of polymorphic CYP3A5 genotype on the single-dose simvastatin pharmacokinetics in healthy subjects. *J Clin Pharmacol*. 2007; 47(1):87-93. [PMID: 17192506]
- Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, Sauna ZE, Calcagno AM, Ambudkar SV, Gottesman MM. A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science*. 2007; 315(5811):525-8. Erratum in: *Science*. 2007; 318(5855):1382-3. [PMID: 17185560]
- Kirchheiner J, Kudlicz D, Meisel C, Bauer S, Meineke I, Roots I, Brockmöller J. Influence of CYP2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics and cholesterol-lowering activity of (-)-3S,5R-fluvastatin and (+)-3R,5S-fluvastatin in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther*. 2003; 74(2):186-94. [PMID: 12891229]
- Kitamura S, Maeda K, Sugiyama Y. Recent progresses in the experimental methods and evaluation strategies of transporter functions for the prediction of the pharmacokinetics in humans. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2008a; 377(4-6):617-28. [PMID: 18536908]
- Kitamura S, Maeda K, Wang Y, Sugiyama Y. Involvement of multiple transporters in the hepatobiliary transport of rosuvastatin. *Drug Metab Dispos*. 2008b; 36(10):2014-23. [PMID: 18617601]
- Kitazawa E, Tamura N, Iwabuchi H, Uchiyama M, Muramatsu S, Takahagi H, Tanaka M. Biotransformation of pravastatin sodium (I). Mechanisms of enzymic transformation and epimerization of an allylic hydroxy group of pravastatin sodium. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993; 192(2):597-602. Erratum in: *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 195(1):504. [PMID: 8484769]
- Kivistö KT, Niemi M, Schaeffeler E, Pitkälä K, Tilvis R, Fromm MF, et al. Lipid-lowering response to statins is affected by CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics*. 2004a; 14(8):523-5. [PMID: 15284534]
- Kivistö KT, Zukunft J, Hofmann U, Niemi M, Rekersbrink S, Schneider S, Luippold G, Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF. Characterisation of cerivastatin as a P-glycoprotein substrate: studies in P-glycoprotein-expressing cell monolayers and *mdr1a/b* knock-out mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2004b; 370(2):124-30. [PMID: 15322734]
- Klerx AH, de Grooth GJ, Zwinderman AH, Jukema JW, Kuivenhoven JA, Kastelein JJ. Cholesteryl ester transfer protein concentration is associated with progression of atherosclerosis and response to pravastatin in men with coronary artery disease (REGRESS). *Eur J Clin Invest*. 2004; 34(1):21-8. [PMID: 14984434]
- Kobayashi D, Nozawa T, Imai K, Nezu J, Tsuji A, Tamai I. Involvement of human organic anion transporting polypeptide OATP-B (SLC21A9) in pH-dependent transport across intestinal apical membrane. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 306(2):703-8. [PMID: 12724351]
- Kobayashi M, Fujita I, Itagaki S, Hirano T, Iseki K. Transport mechanism for L-lactic acid in human myocytes using human prototypic embryonal rhabdomyosarcoma cell line (RD cells). *Biol Pharm Bull*. 2005; 28(7):1197-201. [PMID: 15997097]
- Kobayashi M, Otsuka Y, Itagaki S, Hirano T, Iseki K. Inhibitory effects of statins on human monocarboxylate transporter 4. *Int J Pharm*. 2006; 317(1):19-25. [PMID: 16621368]
- Kobayashi M, Chisaki I, Narumi K, Hidaka K, Kagawa T, Itagaki S, et al. Association between risk of myopathy and cholesterol-lowering effect: a comparison of all statins. *Life Sci*. 2008; 82(17-18):969-75. [PMID: 18402982]
- Koeijvoets KC, Rodenburg J, Hutten BA, Wiegman A, Kastelein JJ, Sijbrands EJ. Low-density lipoprotein receptor genotype and response to pravastatin in children with familial hypercholesterolemia: substudy of an intima-media thickness trial. *Circulation*. 2005; 112(20):3168-73. [PMID: 16286607]
- Kohlrausch FB, Salatino-Oliveira A, Gama CS, Lobato MI, Belmonte-de-Abreu P, Hutz MH. G-protein gene 825C>T polymorphism is associated with response to clozapine in Brazilian schizophrenics. *Pharmacogenomics*. 2008; 9(10):1429-36. [PMID: 18855531]
- Kopplow K, Letschert K, König J, Walter B, Keppler D. Human hepatobiliary transport of organic anions analyzed by quadruple-transfected cells. *Mol Pharmacol*. 2005; 68(4):1031-8. [PMID: 16046661]
- Kosoy R, Nassir R, Tian C, White PA, Butler LM, Silva G, et al. Ancestry informative marker sets for determining continental origin and admixture proportions in common populations in America. *Hum Mutat*. 2009; 30(1):69-78. [PMID: 18683858]

- Kubo T, Kim SR, Sai K, Saito Y, Nakajima T, Matsumoto K, Saito H, Shirao K, Yamamoto N, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Ohno Y, Ozawa S, Sawada J. Functional characterization of three naturally occurring single nucleotide polymorphisms in the CES2 gene encoding carboxylesterase 2 (HCE-2). *Drug Metab Dispos.* 2005; 33(10):1482-7. [PMID: 16033949]
- Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, Watkins PB, Daly A, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet.* 2001; 27(4):383-91. [PMID: 11279519]
- Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH, de Krijff P, McPherson R, Bruschke AV, et al. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The Regression Growth Evaluation Statin Study Group. *N Engl J Med.* 1998; 338(2):86-93. [PMID: 9420339]
- Kunnas TA, Lehtimäki T, Laaksonen R, Ilveskoski E, Janatuinen T, Vesalainen R, et al. Endothelial nitric oxide synthase genotype modulates the improvement of coronary blood flow by pravastatin: a placebo-controlled PET study. *J Mol Med.* 2002; 80(12):802-7. [PMID: 12483466]
- Kusuhara H, Sugiyama Y. In vitro-in vivo extrapolation of transporter-mediated clearance in the liver and kidney. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2009; 24(1):37-52. [PMID: 19252335]
- Lago Deibe FI (ed). Recomendaciones SemFYC: Dislipemias. 2ª ed. SEMFYC, Barcelona, 2004.
- Lahoz C, Peña R, Mostaza JM, Jiménez J, Subirats E, Pintó X, et al., RAP Study Group. Apo A-I promoter polymorphism influences basal HDL-cholesterol and its response to pravastatin therapy. *Atherosclerosis.* 2003; 168(2):289-95. [PMID: 12801612]
- Lahoz C, Peña R, Mostaza JM, Laguna F, García-Iglesias MF, Taboada M, Pintó X. Baseline levels of low-density lipoprotein cholesterol and lipoprotein (a) and the AvaII polymorphism of the low-density lipoprotein receptor gene influence the response of low-density lipoprotein cholesterol to pravastatin treatment. *Metabolism.* 2005a; 54(6):741-7. [PMID: 15931608]
- Lahoz C, Peña R, Mostaza JM, Laguna F, García-Iglesias MF, Taboada M, et al., RAP Study Group. The -514C/T polymorphism of the hepatic lipase gene significantly modulates the HDL-cholesterol response to statin treatment. *Atherosclerosis.* 2005b; 182(1):129-34. [PMID: 16115483]
- Laika B, Leucht S, Heres S, Schneider H, Steimer W. Pharmacogenetics and olanzapine treatment: CYP1A2*1F and serotonergic polymorphisms influence therapeutic outcome. *Pharmacogenomics J.* 2010; 10(1):20-29. [PMID: 19636338]
- Lam TN, Hunt CA. Discovering plausible mechanistic details of hepatic drug interactions. *Drug Metab Dispos.* 2009; 37(1):237-46. [PMID: 18936110]
- Lamba J, Lamba V, Schuetz E. Genetic variants of PXR (NR1I2) and CAR (NR1I3) and their implications in drug metabolism and pharmacogenetics. *Curr Drug Metab.* 2005; 6(4):369-83. [PMID: 16101575]
- Lamba J, Lamba V, Strom S, Venkataramanan R, Schuetz E. Novel single nucleotide polymorphisms in the promoter and intron 1 of human pregnane X receptor/NR1I2 and their association with CYP3A4 expression. *Drug Metab Dispos.* 2008a; 36(1):169-81. [PMID: 17925385]
- Lamba JK. Pharmacogenetics of the constitutive androstane receptor. *Pharmacogenomics.* 2008b; 9(1):71-83. [PMID: 18154449]
- LaRosa JC. Statins and risk of coronary heart disease *JAMA.* 2000; 283(22):2935-6. [PMID: 10865268]
- Laughlin RC, Carey TF. Cataracts in patients treated with triparanol. *JAMA.* 1962; 181:339-40. [PMID: 14462758]
- Law MR, Wald NJ, Rudnicka AR. Quantifying effect of statins on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease, and stroke: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2003; 326(7404):1423. [PMID: 12829554]
- Law M, Rudnicka AR. Statin safety: a systematic review. *Am J Cardiol.* 2006; 97(8A):52C-60C. [PMID: 16581329]
- Ledmyr H, McMahon AD, Ehrenborg E, Nielsen LB, Neville M, Lithell H, et al, WOSCOPS executive. The microsomal triglyceride transfer protein gene-493T variant lowers cholesterol but increases the risk of coronary heart disease. *Circulation.* 2004; 109(19):2279-84. [PMID: 15136504]
- Lee SJ, Bell DA, Coulter SJ, Ghanayem B, Goldstein JA. Recombinant CYP3A4*17 is defective in metabolizing the hypertensive drug nifedipine, and the CYP3A4*17 allele may occur on the same chromosome as CYP3A5*3, representing a new putative defective CYP3A haplotype. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005a; 313(1):302-9. [PMID: 15634941]
- Lee E, Ryan S, Birmingham B, Zalikowski J, March R, Ambrose H, et al. Rosuvastatin pharmacokinetics and pharmacogenetics in white and Asian subjects residing in the same environment. *Clin Pharmacol Ther.* 2005b; 78(4):330-41. [PMID: 16198652]
- Lehman-McKeeman LD. Beam me up Scotty: incorporating transporters in physiologically based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling. *Toxicol Sci.* 2008; 104(1):1-3. [PMID: 18441344]
- Lehtimäki T, Laaksonen R, Janatuinen T, Vesalainen R, Nuutila P, Mattila K, et al. Interleukin-1B genotype modulates the improvement of coronary artery reactivity by lipid-lowering therapy with pravastatin: a placebo-controlled positron emission tomography study in young healthy men. *Pharmacogenetics.* 2003; 13(10):633-9. [PMID: 14515062]
- Leitersdorf E, Eisenberg S, Eliav O, Friedlander Y, Berkman N, Dann EJ, et al. Genetic determinants of responsiveness to the HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin in patients with molecularly defined heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation.* 1993; 87(4 Suppl):III35-44. [PMID: 8462179]
- Leren TP, Hjermann I. Is responsiveness to lovastatin in familial hypercholesterolaemia heterozygotes influenced by the specific mutation in the low-density lipoprotein receptor gene? *Eur J Clin Invest.* 1995; 25(12):967-73. [PMID: 8719939]

- Lesko LJ, Salerno RA, Spear BB, Anderson DC, Anderson T, Brazell C, et al. Pharmacogenetics and pharmacogenomics in drug development and regulatory decision making: report of the first FDA-PWG-PhRMA-DruSafe Workshop. *J Clin Pharmacol*. 2003; 43(4):342-58. [PMID: 12723455]
- Li C, Subramanian R, Yu S, Prueksaritanont T. Acyl-coenzyme A formation of simvastatin in mouse liver preparations. *Drug Metab Dispos*. 2006; 34(1):102-10. [PMID: 16251252]
- Li Y, Jiang X, Lan K, Zhang R, Li X, Jiang Q. Pharmacokinetic properties of rosuvastatin after single-dose, oral administration in Chinese volunteers: a randomized, open-label, three-way crossover study. *Clin Ther*. 2007; 29(10):2194-203. [PMID: 18042475]
- Li MD, Lou XY, Chen G, Ma JZ, Elston RC. Gene-gene interactions among CHRNA4, CHRNA2, BDNF, and NTRK2 in nicotine dependence. *Biol Psychiatry*. 2008; 64(11):951-7. [PMID: 18534558]
- Lin E, Hsu SY. A Bayesian approach to gene-gene and gene-environment interactions in chronic fatigue syndrome. *Pharmacogenomics*. 2009; 10(1):35-42. [PMID: 19102713]
- Lindemann M, Barsegian V, Siffert W, Ferencik S, Roggendorf M, Grosse-Wilde H. Role of G protein beta3 subunit C825T and HLA class II polymorphisms in the immune response after HBV vaccination. *Virology*. 2002; 297(2):245-52. [PMID: 12083823]
- Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, Gut I, Lathrop M, Collins R, and SEARCH Collaborative Group. SLC1B1 variants and statin-induced myopathy--a genome-wide study. *N Engl J Med*. 2008; 359(8):789-99. [PMID: 18650507]
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001; 46(1-3):3-26. Review. [PMID: 11259830]
- Lou XY, Chen GB, Yan L, Ma JZ, Zhu J, Elston RC, Li MD. A generalized combinatorial approach for detecting gene-by-gene and gene-by-environment interactions with application to nicotine dependence. *Am J Hum Genet*. 2007; 80(6):1125-37. [PMID: 17503330]
- Lutucuta S, Ballantyne CM, Elghannam H, Gotto AM Jr, Marian AJ. Novel polymorphisms in promoter region of atp binding cassette transporter gene and plasma lipids, severity, progression, and regression of coronary atherosclerosis and response to therapy. *Circ Res*. 2001; 88(9):969-73. [PMID: 11349008]
- Lubomirov R, di Iulio J, Fayet A, Colombo S, Martinez R, Marzolini C, Furrer H, Vernazza P, Calmy A, Cavassini M, Lederberger B, Rentsch K, Descombes P, Buclin T, Decosterd LA, Csajka C, Telenti A, and the Swiss HIV Cohort Study. ADME pharmacogenetics - investigation of the pharmacokinetics of the antiretroviral agent lopinavir co-formulated with ritonavir. *Pharmacogenet Genomics*. 2010 (in press). [PMID: N.D.]
- Mackay J & Mensah G (eds) *The Atlas of Heart Disease and Stroke* (WHO, Geneva, Switzerland, 2004). Disponible en: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/resources/atlas/en/ (accedido el 10 de abril de 2009).
- Maeda K, Ieiri I, Yasuda K, Fujino A, Fujiwara H, Otsubo K, et al. Effects of organic anion transporting polypeptide 1B1 haplotype on pharmacokinetics of pravastatin, valsartan, and temocapril. *Clin Pharmacol Ther*. 2006; 79(5):427-39. [PMID: 16678545]
- Maeda K, Sugiyama Y. Impact of genetic polymorphisms of transporters on the pharmacokinetic, pharmacodynamic and toxicological properties of anionic drugs. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2008; 23(4):223-35. [PMID: 18762709]
- Mager DE, Jusko WJ. Development of translational pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin Pharmacol Ther*. 2008; 83(6):909-12. [PMID: 18388873]
- Maitland-van der Zee AH, Stricker BH, Klungel OH, Kastelein JJ, Hofman A, Witteman JC, et al. The effectiveness of hydroxy-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors (statins) in the elderly is not influenced by apolipoprotein E genotype. *Pharmacogenetics*. 2002; 12(8):647-53. [PMID: 12439225]
- Maitland-van der Zee AH, Stricker BH, Klungel OH, Mantel-Teeuwisse AK, Kastelein JJ, Hofman A, et al. Adherence to and dosing of beta-hydroxy-beta-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in the general population differs according to apolipoprotein E-genotypes. *Pharmacogenetics*. 2003; 13(4):219-23. [PMID: 12668918]
- Maitland-van der Zee AH, Klungel OH, Stricker BH, Veenstra DL, Kastelein JJ, Hofman A, et al. Pharmacoeconomic evaluation of testing for angiotensin-converting enzyme genotype before starting beta-hydroxy-beta-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor therapy in men. *Pharmacogenetics*. 2004; 14(1):53-60. [PMID: 15128051]
- Maitland-van der Zee AH, Jukema JW, Zwinderman AH, Hallman DM, De Boer A, Kastelein JJ, De Knijff P. Apolipoprotein-E polymorphism and response to pravastatin in men with coronary artery disease (REGRESS). *Acta Cardiol*. 2006; 61(3):327-31. [PMID: 16869455]
- Maitland-van der Zee AH, Boerwinkle E, Arnett DK, Davis BR, Leidencker-Foster C, Miller MB, et al. Absence of an interaction between the angiotensin-converting enzyme insertion-deletion polymorphism and pravastatin on cardiovascular disease in high-risk hypertensive patients: the Genetics of Hypertension-Associated Treatment (GenHAT) study. *Am Heart J*. 2007; 153(1):54-8. [PMID: 17174637]
- Maitland-van der Zee AH, Lynch A, Boerwinkle E, Arnett DK, Davis BR, Leidencker-Foster C, et al. Interactions between the single nucleotide polymorphisms in the homocysteine pathway (MTHFR 677C>T, MTHFR 1298 A>C, and CBSins) and the efficacy of HMG-CoA reductase inhibitors in preventing cardiovascular disease in high-risk patients of hypertension: the GenHAT study. *Pharmacogenet Genomics*. 2008; 18(8):651-6. [PMID: 18622257]
- Maitland-van der Zee AH, Peters BJ, Lynch AI, Boerwinkle E, Arnett DK, Cheng S, et al. The effect of nine common polymorphisms in coagulation factor genes (F2, F5, F7, F12 and F13) on the

- effectiveness of statins: the GenHAT study. *Pharmacogenet Genomics*. 2009; 19(5):338-44. [PMID: 19415820]
- Malin R, Laaksonen R, Knuuti J, Janatuinen T, Vesalainen R, Nuutila P, Lehtimäki T. Paraoxonase genotype modifies the effect of pravastatin on high-density lipoprotein cholesterol. *Pharmacogenetics*. 2001; 11(7):625-33. [PMID: 11668222]
- Mandema JW, Hermann D, Wang W, Sheiner T, Milad M, Bakker-Arkema R, Hartman D. Model-based development of gemcabene, a new lipid-altering agent. *AAPS J*. 2005; 7(3):E513-22. [PMID: 16353929]
- Marian AJ, Safavi F, Ferlic L, Dunn JK, Gotto AM, Ballantyne CM. Interactions between angiotensin-I converting enzyme insertion/deletion polymorphism and response of plasma lipids and coronary atherosclerosis to treatment with fluvastatin: the lipoprotein and coronary atherosclerosis study. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 35(1):89-95. [PMID: 10636265]
- Marrari Y, Crouthamel M, Irannejad R, Wedegaertner PB. Assembly and trafficking of heterotrimeric G proteins. *Biochemistry*. 2007; 46(26):7665-77. [PMID: 17559193]
- Marschang P, Sandhofer A, Ritsch A, Fišer I, Kvas E, Patsch JR. Plasma cholesteryl ester transfer protein concentrations predict cardiovascular events in patients with coronary artery disease treated with pravastatin. *J Intern Med*. 2006; 260(2):151-9. [PMID: 16882279]
- Marsh S, Xiao M, Yu J, Ahluwalia R, Minton M, Freimuth RR, Kwok PY, McLeod HL. Pharmacogenomic assessment of carboxylesterases 1 and 2. *Genomics*. 2004; 84(4):661-8. [PMID: 15475243]
- Martin PD, Dane AL, Nwose OM, Schneck DW, Warwick MJ. No effect of age or gender on the pharmacokinetics of rosuvastatin: a new HMG-CoA reductase inhibitor. *J Clin Pharmacol*. 2002; 42(10):1116-21. [PMID: 12362926]
- Martin PD, Warwick MJ, Dane AL, Hill SJ, Giles PB, Phillips PJ, Lenz E. Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of rosuvastatin in healthy adult male volunteers. *Clin Ther*. 2003; 25(11):2822-35. [PMID: 14693307]
- Matsushima S, Maeda K, Kondo C, Hirano M, Sasaki M, Suzuki H, Sugiyama Y. Identification of the hepatic efflux transporters of organic anions using double-transfected Madin-Darby canine kidney II cells expressing human organic anion-transporting polypeptide 1B1 (OATP1B1)/multidrug resistance-associated protein 2, OATP1B1/multidrug resistance 1, and OATP1B1/breast cancer resistance protein. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005; 314(3):1059-67. [PMID: 15901800]
- McClellan KJ, Wiseman LR, McTavish D. Cerivastatin. *Drugs*. 1998; 55(3):415-20. [PMID: 9530546]
- McIntire WE. Structural determinants involved in the formation and activation of G protein betagamma dimers. *Neurosignals*. 2009; 17(1):82-99. [PMID: 19212142]
- McTaggart F, Buckett L, Davidson R, Holdgate G, McCormick A, Schneck D, Smith G, Warwick M. Preclinical and clinical pharmacology of Rosuvastatin, a new 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor. *Am J Cardiol*. 2001; 87(5A):28B-32B. [PMID: 11256847]
- Medrano Albero MJ, Boix Martínez R, Cerrato Crespán E, Ramírez Santa-Pau M. Incidencia y prevalencia de cardiopatía isquémica y enfermedad cerebrovascular en España: revisión sistemática de la literatura. *Rev Esp Salud Publica* 2006; 80(1):5-15.
- Mega JL, Morrow DA, Brown A, Cannon CP, Sabatine MS. Identification of genetic variants associated with response to statin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29(9):1310-5. [PMID: 19667110]
- Meyer Zu Schwabedissen HE, Kim RB. Hepatic OATP1B Transporters and Nuclear Receptors PXR and CAR: Interplay, Regulation of Drug Disposition Genes, and Single Nucleotide Polymorphisms. *Mol Pharm*. 2009 Jul 10. [PMID: 19558188]
- Mitchell A, Rushentsova U, Siffert W, Philipp T, Wenzel RR. The angiotensin II receptor antagonist valsartan inhibits endothelin 1-induced vasoconstriction in the skin microcirculation in humans in vivo: influence of the G-protein beta3 subunit (GNB3) C825T polymorphism. *Clin Pharmacol Ther*. 2006; 79(3):274-81. [PMID: 16513451]
- Mohrschladt MF, van der Sman-de Beer F, Hofman MK, van der Krabben M, Westendorp RG, Smelt AH. TaqIB polymorphism in CETP gene: the influence on incidence of cardiovascular disease in statin-treated patients with familial hypercholesterolemia. *Eur J Hum Genet*. 2005; 13(7):877-82. [PMID: 15856070]
- Moore JH. A global view of epistasis. *Nat Genet*. 2005; 37(1):13-4. [PMID: 15624016]
- Morahan JM, Yu B, Trent RJ, Pamphlett R. A gene-environment study of the paraoxonase 1 gene and pesticides in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotoxicology*. 2007; 28(3):532-40. [PMID: 17204329]
- Morrison AC, Doris PA, Folsom AR, Nieto FJ, Boerwinkle E; Atherosclerosis Risk in Communities Study. G-protein beta3 subunit and alpha-adducin polymorphisms and risk of subclinical and clinical stroke. *Stroke*. 2001; 32(4):822-9. [PMID: 11283377]
- Motsinger AA, Ritchie MD, Reif DM. Novel methods for detecting epistasis in pharmacogenomics studies. *Pharmacogenomics*. 2007; 8(9):1229-41. [PMID: 17924838]
- Motsinger-Reif AA, Dudek SM, Hahn LW, Ritchie MD. Comparison of approaches for machine-learning optimization of neural networks for detecting gene-gene interactions in genetic epidemiology. *Genet Epidemiol*. 2008; 32(4):325-40. [PMID: 18265411]
- Mukhtar RY, Reid J, Reckless JP. Pitavastatin. *Int J Clin Pract*. 2005; 59(2):239-52. [PMID: 15854203]
- Mulder AB, van Lijf HJ, Bon MA, van den Bergh FA, Touw DJ, Neef C, Vermes I. Association of polymorphism in the cytochrome CYP2D6 and the efficacy and tolerability of simvastatin. *Clin Pharmacol Ther*. 2001; 70(6):546-51. [PMID: 11753271]
- Mulder AB, van den Bergh FA, Vermes I. Response to "The efficacy of simvastatin is not influenced by CYP2D6 polymorphism" by Geisel et al. *Clin Pharmacol Ther*. 2003; 73(5):475. [PMID: 12732847]

- Musani SK, Shriner D, Liu N, Feng R, Coffey CS, Yi N, Tiwari HK, Allison DB. Detection of gene x gene interactions in genome-wide association studies of human population data. *Hum Hered.* 2007; 63(2):67-84. [PMID: 17283436]
- Mwinyi J, Johnne A, Bauer S, Roots I, Gerloff T. Evidence for inverse effects of OATP-C (SLC21A6) 5 and 1b haplotypes on pravastatin kinetics. *Clin Pharmacol Ther.* 2004; 75(5):415-21. [PMID: 15116054]
- Naber CK, Hüsing J, Wolfhard U, Erbel R, Siffert W. Interaction of the ACE D allele and the GNB3 825T allele in myocardial infarction. *Hypertension.* 2000; 36(6):986-9. [PMID: 11116112]
- Nagasawa K, Muraki Y, Matsuda T, Ohnishi N, Yokoyama T. Inhibitory effect of statins on fetal bovine serum-induced proliferation of rat cultured mesangial cells and correlation between their inhibitory effect and transport characteristics. *J Pharm Sci.* 2000; 89(12):1594-604. [PMID: 11042608]
- Nagasawa K, Nagai K, Sumitani Y, Moriya Y, Muraki Y, Takara K, Ohnishi N, Yokoyama T, Fujimoto S. Monocarboxylate transporter mediates uptake of lovastatin acid in rat cultured mesangial cells. *J Pharm Sci.* 2002; 91(12):2605-13. [PMID: 12434405]
- Nagasawa K, Nagai K, Ishimoto A, Fujimoto S. Transport mechanism for lovastatin acid in bovine kidney NBL-1 cells: kinetic evidences imply involvement of monocarboxylate transporter 4. *Int J Pharm.* 2003; 262(1-2):63-73. [PMID: 12927388]
- Nagassaki S, Sertório JT, Metzger IF, Bem AF, Rocha JB, Tanus-Santos JE. eNOS gene T-786C polymorphism modulates atorvastatin-induced increase in blood nitrite. *Free Radic Biol Med.* 2006; 41(7):1044-9. [PMID: 16962929]
- Nakai D, Nakagomi R, Furuta Y, Tokui T, Abe T, Ikeda T, Nishimura K. Human liver-specific organic anion transporter, LST-1, mediates uptake of pravastatin by human hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001; 297(3):861-7. [PMID: 11356905]
- Neaton JD, Blackburn H, Jacobs D, Kuller L, Lee DJ, Sherwin R, Shih J, Stamler J, Wentworth D. Serum cholesterol level and mortality findings for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. *Arch Intern Med.* 1992; 152(7):1490-500. [PMID: 1627030]
- Nestel P, Simons L, Barter P, Clifton P, Colquhoun D, Hamilton-Craig I, et al. A comparative study of the efficacy of simvastatin and gemfibrozil in combined hyperlipoproteinemia: prediction of response by baseline lipids, apo E genotype, lipoprotein(a) and insulin. *Atherosclerosis.* 1997; 129(2):231-9. [PMID: 9105566]
- Nestorov I. Whole body pharmacokinetic models. *Clin Pharmacokinet.* 2003; 42(10):883-908. [PMID: 12885263]
- Newcombe RG. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat Med.* 1998; 17(8):857-72. [PMID: 9595616]
- Nicolas JM, Espie P, Molimard M. Gender and interindividual variability in pharmacokinetics. *Drug Metab Rev.* 2009; 41(3):408-21. [PMID: 19601720]
- Niemi M, Schaeffeler E, Lang T, Fromm MF, Neuvonen M, Kyrklund C, et al. High plasma pravastatin concentrations are associated with single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide-C (OATP-C, SLCO1B1). *Pharmacogenetics.* 2004; 14(7):429-40. [PMID: 15226675]
- Niemi M, Neuvonen PJ, Hofmann U, Backman JT, Schwab M, Lütjohann D, et al. Acute effects of pravastatin on cholesterol synthesis are associated with SLCO1B1 (encoding OATP1B1) haplotype *17. *Pharmacogenet Genomics.* 2005; 15(5):303-9. [PMID: 15864131]
- Niemi M, Pasanen MK, Neuvonen PJ. SLCO1B1 polymorphism and sex affect the pharmacokinetics of pravastatin but not fluvastatin. *Clin Pharmacol Ther.* 2006a; 80(4):356-66. [PMID: 17015053]
- Niemi M, Arnold KA, Backman JT, Pasanen MK, Gödtel-Armbrust U, Wojnowski L, et al. Association of genetic polymorphism in ABCB2 with hepatic multidrug resistance-associated protein 2 expression and pravastatin pharmacokinetics. *Pharmacogenet Genomics.* 2006b; 16(11):801-8. [PMID: 17047488]
- Niemi M. Role of OATP transporters in the disposition of drugs. *Pharmacogenomics.* 2007; 8(7):787-802. [PMID: 18240907]
- Niemi M. Transporter pharmacogenetics and statin toxicity. *Clin Pharmacol Ther.* 2010; 87(1):130-3. [PMID: 19890253]
- Nieminen T, Knuuti J, Hämelähti P, Kähönen M, Laaksonen R, Janatuinen T, et al. Coronary reactivity, homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase gene variation in young men during pravastatin therapy. *Vascul Pharmacol.* 2007; 47(2-3):113-7. [PMID: 17574929]
- Niessen J, Jedlitschky G, Grube M, Bien S, Schwertz H, Ohtsuki S, Kawakami H, Kamiie J, Oswald S, Starke K, Strobel U, Siegmund W, Rosskopf D, Greinacher A, Terasaki T, Kroemer HK. Human platelets express OATP2B1, an uptake transporter for atorvastatin. 2009; 37(5):1129-37. [PMID: 19237515]
- Nishizato Y, Ieiri I, Suzuki H, Kimura M, Kawabata K, Hirota T, et al. Polymorphisms of OATP-C (SLC21A6) and OAT3 (SLC22A8) genes: consequences for pravastatin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther.* 2003; 73(6):554-65. [PMID: 12811365]
- Noé J, Portmann R, Brun ME, Funk C. Substrate-dependent drug-drug interactions between gemfibrozil, fluvastatin and other organic anion-transporting peptide (OATP) substrates on OATP1B1, OATP2B1, and OATP1B3. *Drug Metab Dispos.* 2007; 35(8):1308-14. [PMID: 17470528]
- Nordin C, Dahl ML, Eriksson M, Sjöberg S. Is the cholesterol-lowering effect of simvastatin influenced by CYP2D6 polymorphism? *Lancet.* 1997; 350(9070):29-30. [PMID: 9217719]

- Nozawa T, Imai K, Nezu J, Tsuji A, Tamai I. Functional characterization of pH-sensitive organic anion transporting polypeptide OATP-B in human. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004; 308(2):438-45. [PMID: 14610227]
- Nürnberg J, Dammer S, Mitchell A, Siffert W, Wenzel RR, Gössl M, Philipp T, Michel MC, Schäfers RF. Effect of the C825T polymorphism of the G protein beta 3 subunit on the systolic blood pressure-lowering effect of clonidine in young, healthy male subjects. *Clin Pharmacol Ther*. 2003; 74(1):53-60. [PMID: 12844135]
- Ober C, Loisel DA, Gilad Y. Sex-specific genetic architecture of human disease. *Nat Rev Genet*. 2008; 9(12):911-22. [PMID: 19002143]
- Oh J, Ban MR, Miskie BA, Pollex RL, Hegele RA. Genetic determinants of statin intolerance. *Lipids Health Dis*. 2007; 6:7. [PMID: 17376224]
- Ohtsuki S, Kikkawa T, Mori S, Hori S, Takanaga H, Otagiri M, Terasaki T. Mouse reduced in osteosclerosis transporter functions as an organic anion transporter 3 and is localized at abluminal membrane of blood-brain barrier. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004; 309(3):1273-81. [PMID: 14762099]
- Ojala JP, Helve E, Ehnholm C, Aalto-Setälä K, Kontula KK, Tikkanen MJ. Effect of apolipoprotein E polymorphism and XbaI polymorphism of apolipoprotein B on response to lovastatin treatment in familial and non-familial hypercholesterolaemia. *J Intern Med*. 1991; 230(5):397-405. [PMID: 1940775]
- Olson RE. Discovery of the lipoproteins, their role in fat transport and their significance as risk factors. *J Nutr*. 1998; 128(2 Suppl):439S-443S. [PMID: 9478044]
- Olsson AG, McTaggart F, Raza A. Rosuvastatin: a highly effective new HMG-CoA reductase inhibitor. *Cardiovasc Drug Rev*. 2002; 20(4):303-28. [PMID: 12481202]
- O'Malley JP, Illingworth DR. The influence of apolipoprotein E phenotype on the response to lovastatin therapy in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Metabolism*. 1990; 39(2):150-4. [PMID: 2299987]
- O'Neill FH, Patel DD, Knight BL, Neuwirth CK, Bourbon M, Soutar AK, Taylor GW, Thompson GR, Naoumova RP. Determinants of variable response to statin treatment in patients with refractory familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21(5):832-7. [PMID: 11348882]
- Ordovas JM, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F, Rodriguez C, Park JS, Cole T, Schaefer EJ. Effect of apolipoprotein E and A-IV phenotypes on the low density lipoprotein response to HMG CoA reductase inhibitor therapy. *Atherosclerosis*. 1995; 113(2):157-66. [PMID: 7605354]
- Pan HY, Wacławski AP, Funke PT, Whigan D. Pharmacokinetics of pravastatin in elderly versus young men and women. *Ann Pharmacother*. 1993; 27(9):1029-33. [PMID: 8219432]
- Pahan K. Lipid-lowering drugs. *Cell Mol Life Sci*. 2006; 63(10):1165-78. [PMID: 16568248]
- Pasanen MK, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Niemi M. SLCO1B1 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of simvastatin acid. *Pharmacogenet Genomics*. 2006; 16(12):873-9. [PMID: 17108811]
- Pasanen MK, Fredrikson H, Neuvonen PJ, Niemi M. Different effects of SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther*. 2007; 82(6):726-33. [PMID: 17473846]
- Pasanen MK, Neuvonen PJ, Niemi M. Global analysis of genetic variation in SLCO1B1. *Pharmacogenomics*. 2008a; 9(1):19-33. [PMID: 18154446]
- Pasanen MK, Miettinen TA, Gylling H, Neuvonen PJ, Niemi M. Polymorphism of the hepatic influx transporter organic anion transporting polypeptide 1B1 is associated with increased cholesterol synthesis rate. *Pharmacogenet Genomics*. 2008b; 18(10):921-6. [PMID: 18794729]
- Pedro-Botet J, Schaefer EJ, Bakker-Arkema RG, Black DM, Stein EM, Corella D, Ordovas JM. Apolipoprotein E genotype affects plasma lipid response to atorvastatin in a gender specific manner. *Atherosclerosis*. 2001; 158(1):183-93. [PMID: 11500190]
- Peña R, Lahoz C, Mostaza JM, Jiménez J, Subirats E, Pintó X, et al., Rap Study Group. Effect of apoE genotype on the hypolipidaemic response to pravastatin in an outpatient setting. *J Intern Med*. 2002; 251(6):518-25. [PMID: 12028507]
- Peters BJ, Maitland-van der Zee AH, Stricker BH, van Wieren-de Wijer DB, de Boer A, et al. Effectiveness of statins in the reduction of the risk of myocardial infarction is modified by the GNB3 C825T variant. *Pharmacogenet Genomics*. 2008; 18(7):631-6. [PMID: 18551043]
- Peters BJ, Klungel OH, Visseren FL, de Boer A, Maitland-van der Zee AH. Pharmacogenomic insights into treatment and management of statin-induced myopathy. *Genome Med* 2009; 1(12):120 [PMID: 20090898]
- Phillips PC. Epistasis--the essential role of gene interactions in the structure and evolution of genetic systems. *Nat Rev Genet*. 2008; 9(11):855-67. [PMID: 18852697]
- Pilote L, Dasgupta K, Guru V, Humphries KH, McGrath J, Norris C, et al. A comprehensive view of sex-specific issues related to cardiovascular disease. *CMAJ*. 2007; 176(6):S1-44. Erratum in: *CMAJ*. 2007; 176(9):1310. [PMID: 17353516]
- Polisecki E, Muallem H, Maeda N, Peter I, Robertson M, McMahon AD, et al. Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk (PROSPER) Investigators. Genetic variation at the LDL receptor and HMG-CoA reductase gene loci, lipid levels, statin response, and cardiovascular disease incidence in PROSPER. *Atherosclerosis*. 2008; 200(1):109-14. [PMID: 18261733]
- Potaczek DP, Undas A, Celinska-Lowenhoff M, Szczeklik A. Interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism and effects of fenofibrate and simvastatin on inflammatory markers in hypercholesterolemic patients. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2006; 17(1):35-8. [PMID: 16607077]

- Prueksaritanont T, Gorham LM, Ma B, Liu L, Yu X, Zhao JJ, Slaughter DE, Arison BH, Vyas KP. In vitro metabolism of simvastatin in humans [SBT]identification of metabolizing enzymes and effect of the drug on hepatic P450s. *Drug Metab Dispos.* 1997; 25(10):1191-9. [PMID: 9321523]
- Prueksaritanont T, Ma B, Fang X, Subramanian R, Yu J, Lin JH. beta-Oxidation of simvastatin in mouse liver preparations. *Drug Metab Dispos.* 2001; 29(10):1251-5. [PMID: 11560866]
- Prueksaritanont T, Subramanian R, Fang X, Ma B, Qiu Y, Lin JH, Pearson PG, Baillie TA. Glucuronidation of statins in animals and humans: a novel mechanism of statin lactonization. *Drug Metab Dispos.* 2002; 30(5):505-12. [PMID: 11950779]
- Prueksaritanont T, Ma B, Yu N. The human hepatic metabolism of simvastatin hydroxy acid is mediated primarily by CYP3A, and not CYP2D6. *Br J Clin Pharmacol.* 2003; 56(1):120-4. [PMID: 12848784]
- Puccetti L, Pasqui AL, Pastorelli M, Ciani F, Palazzuoli A, Giofrè W, et al. 3'UTR/T polymorphism of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) is associated with modified anti-platelet activity of atorvastatin in hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis.* 2005; 183(2):322-8. [PMID: 16285995]
- Puccetti L, Pasqui AL, Bruni F, Pastorelli M, Ciani F, Palazzuoli A, et al. Lectin-like oxidized-LDL receptor-1 (LOX-1) polymorphisms influence cardiovascular events rate during statin treatment. *Int J Cardiol.* 2007; 119(1):41-7. [PMID: 17050011]
- Puccetti L, Bruni F, Pasqui AL, Pastorelli M, Ciani F, Palazzuoli A, et al. Genetic influence in antithrombotic actions of atorvastatin in hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest.* 2008; 38(1):11-6. [PMID: 18173546]
- Qi L, van Dam RM, Asselbergs FW, Hu FB. Gene-gene interactions between HNF4A and KCNJ11 in predicting Type 2 diabetes in women. *Diabet Med.* 2007; 24(11):1187-91. [PMID: 17894829]
- Rees DC, Johnson E, Lewinson O. ABC transporters: the power to change. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009; 10(3):218-27. [PMID: 19234479]
- Regieli JJ, Jukema JW, Grobbee DE, Kastelein JJ, Kuivenhoven JA, Zwinderman AH, et al. CETP genotype predicts increased mortality in statin-treated men with proven cardiovascular disease: an adverse pharmacogenetic interaction. *Eur Heart J.* 2008; 29(22):2792-9. [PMID: 18957472]
- Rehfeld JF. Clinical endocrinology and metabolism. Cholecystokinin. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2004; 18(4):569-86. [PMID: 15533776]
- Reidenberg MM. Benefit/risk ratio of statins in primary prevention. *Clin Pharmacol Ther.* 2008; 83(3):498-500. [PMID: 17538549]
- Reiman EM, Webster JA, Myers AJ, Hardy J, Dunckley T, Zismann VL et al. GAB2 alleles modify Alzheimer's risk in APOE epsilon4 carriers. *Neuron.* 2007; 54(5):713-20. [PMID: 17553421]
- Riedmaier S, Klein K, Hofmann U, Keskitalo JE, Neuvonen PJ, Schwab M, et al. UDP-Glucuronosyltransferase (UGT) Polymorphisms Affect Atorvastatin Lactonization In Vitro and In Vivo. *Clin Pharmacol Ther.* 2010; 87(1):65-73. [PMID: 19794410]
- Ritchie MD, Hahn LW, Roodi N, Bailey LR, Dupont WD, Parl FF, Moore JH. Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer. *Am J Hum Genet.* 2001; 69(1):138-47. [PMID: 11404819]
- Roberts MS, Magnusson BM, Burczynski FJ, Weiss M. Enterohepatic circulation: physiological, pharmacokinetic and clinical implications. *Clin Pharmacokinet.* 2002; 41(10):751-90. [PMID: 12162761]
- Roden DM, George AL Jr. The genetic basis of variability in drug responses. *Nat Rev Drug Discov.* 2002; 1(1):37-44. [PMID: 12119608]
- Rodríguez Artealejo F, Banegas Banegas JR, Guallar Castellón P, López García E, Puente Mendizabal MT, Del Rey Calero J. Distribución geográfica de las enfermedades cardiovasculares en España: la mortalidad es mayor en las regiones del sur y del mediterráneo. *Cardiovascular Risk Factors* 2000; 9(5):311-318.
- Roncal C, Orbe J, Belzunce M, Rodríguez JA, Páramo JA. The 4G/5G PAI-1 polymorphism influences the endothelial response to IL-1 and the modulatory effect of pravastatin. *J Thromb Haemost.* 2006; 4(8):1798-803. [PMID: 16879223]
- Roskopf D, Manthey I, Habich C, Kielbik M, Eisenhardt A, Nikula C, et al. Identification and characterization of G beta 3s2, a novel splice variant of the G-protein beta 3 subunit. *Biochem J.* 2003; 371(Pt 1):223-32. [PMID: 12431187]
- Ruaño G, Messer C, Dain B, et al. Variability in the ABCA1 but not HMG-CoA reductase predicts low-density lipoprotein lowering effects of statins. Presented at the 52nd Scientific Sessions of American College of Cardiology, 2003, March 30. [PMID: N.D.]
- Ruaño G, Thompson PD, Windemuth A, Seip RL, Dande A, Sorokin A, et al. Physiogenomic association of statin-related myalgia to serotonin receptors. *Muscle Nerve.* 2007; 36(3):329-35. [PMID: 17600820]
- Sabatine MS, Ploughman L, Simonsen KL, Iakoubova OA, Kirchgessner TG, Ranade K, et al. Association between ADAMTS1 matrix metalloproteinase gene variation, coronary heart disease, and benefit of statin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28(3):562-7. [PMID: 18174457]
- Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, Roots I. Functional significance of a C-->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. *Br J Clin Pharmacol.* 1999; 47(4):445-9. [PMID: 10233211]
- Sacks FM, Moyé LA, Davis BR, Cole TG, Rouleau JL, Nash DT, Pfeffer MA, Braunwald E. Relationship between plasma LDL concentrations during treatment with pravastatin and recurrent coronary events in the Cholesterol and Recurrent Events trial. *Circulation.* 1998; 97(15):1446-52. [PMID: 9576424]

- Saeed M, Siddique N, Hung WY, Usacheva E, Liu E, Sufit RL, Heller SL, Haines JL, Pericak-Vance M, Siddique T. Paraoxonase cluster polymorphisms are associated with sporadic ALS. *Neurology*. 2006; 67(5):771-6. [PMID: 16822964]
- Saito YA, Locke GR 3rd, Zimmerman JM, Holtmann G, Slusser JP, de Andrade M, Petersen GM, Talley NJ. A genetic association study of 5-HTT LPR and GNBeta3 C825T polymorphisms with irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil*. 2007; 19(6):465-70. [PMID: 17564628]
- Sakaeda T, Takara K, Kakumoto M, Ohmoto N, Nakamura T, Iwaki K, Tanigawara Y, Okumura K. Simvastatin and lovastatin, but not pravastatin, interact with MDR1. *J Pharm Pharmacol*. 2002; 54(3):419-23. [PMID: 11902809]
- Sakamoto K, Mikami H, Kimura J. Involvement of organic anion transporting polypeptides in the toxicity of hydrophilic pravastatin and lipophilic fluvastatin in rat skeletal myofibres. *Br J Pharmacol*. 2008; 154(7):1482-90. [PMID: 18500364]
- Salazar LA, Hirata MH, Quintão EC, Hirata RD. Lipid-lowering response of the HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin is influenced by polymorphisms in the low-density lipoprotein receptor gene in Brazilian patients with primary hypercholesterolemia. *J Clin Lab Anal*. 2000; 14(3):125-31. [PMID: 10797611]
- Salek L, Lutucuta S, Ballantyne CM, Gotto Jr AM, Marian AJ. Effects of SREBF-1a and SCAP polymorphisms on plasma levels of lipids, severity, progression and regression of coronary atherosclerosis and response to therapy with fluvastatin. *J Mol Med*. 2002; 80(11):737-44. [PMID: 12436350]
- Sandhu P, Lee W, Xu X, Leake BF, Yamazaki M, Stone JA, Lin JH, Pearson PG, Kim RB. Hepatic uptake of the novel antifungal agent caspofungin. *Drug Metab Dispos*. 2005; 33(5):676-82. [PMID: 15716364]
- Sanghera DK, Manzi S, Minster RL, Shaw P, Kao A, Bontempo F, Kamboh MI. Genetic variation in the paraoxonase-3 (PON3) gene is associated with serum PON1 activity. *Ann Hum Genet*. 2008; 72(Pt 1):72-81. [PMID: 17900266]
- Sanllehy C, Casals E, Rodriguez-Villar C, Zambón D, Ojuel J, Ballesta AM, Ros E. Lack of interaction of apolipoprotein E phenotype with the lipoprotein response to lovastatin or gemfibrozil in patients with primary hypercholesterolemia. *Metabolism*. 1998; 47(5):560-5. [PMID: 9591747]
- Sardo MA, Campo S, Bonaiuto M, Bonaiuto A, Saitta C, Trimarchi G, et al. Antioxidant effect of atorvastatin is independent of PON1 gene T(-107)C, Q192R and L55M polymorphisms in hypercholesterolaemic patients. *Curr Med Res Opin*. 2005; 21(5):777-84. [PMID: 15969877]
- Sarrazin C, Berg T, Weich V, Mueller T, Frey UH, Zeuzem S, Gerken G, Roggendorf M, Siffert W. GNB3 C825T polymorphism and response to interferon-alfa/ribavirin treatment in patients with hepatitis C virus genotype 1 (HCV-1) infection. *J Hepatol*. 2005; 43(3):388-93. [PMID: 16019105]
- Sasaki M, Suzuki H, Ito K, Abe T, Sugiyama Y. Transcellular transport of organic anions across a double-transfected Madin-Darby canine kidney II cell monolayer expressing both human organic anion-transporting polypeptide (OATP2/SLC21A6) and Multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2/ABCC2). *J Biol Chem*. 2002; 277(8):6497-503. [PMID: 11748225]
- Schiell MA, Green SL, Davis WI, Sanghani PC, Bosron WF, Sanghani SP. Expression and characterization of a human carboxylesterase 2 splice variant. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007; 323(1):94-101. [PMID: 17636009]
- Schinkel AH, Jonker JW. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv Drug Deliv Rev*. 2003; 55(1):3-29. [PMID: 12535572]
- Schürks M, Kurth T, Stude P, Rimmbach C, de Jesus J, Jonjic M, Diener HC, Roskopf D. G protein beta3 polymorphism and triptan response in cluster headache. *Clin Pharmacol Ther*. 2007; 82(4):396-401. [PMID: 17361120]
- Schuetz EG, Furuya KN, Schuetz JD. Interindividual variation in expression of P-glycoprotein in normal human liver and secondary hepatic neoplasms. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995; 275(2):1011-8. [PMID: 7473127]
- Schunkert H, Hense HW, Döring A, Riegger GA, Siffert W. Association between a polymorphism in the G protein beta3 subunit gene and lower renin and elevated diastolic blood pressure levels. *Hypertension*. 1998; 32(3):510-3. [PMID: 9740618]
- Schwartz JB. Gender-specific implications for cardiovascular medication use in the elderly optimizing therapy for older women. *Cardiol Rev*. 2003; 11(5):275-98. [PMID: 12943605]
- Scripture CD, Pieper JA. Clinical pharmacokinetics of fluvastatin. *Clin Pharmacokinet*. 2001; 40(4):263-81. [PMID: 11368292]
- Shih DM, Xia YR, Wang XP, Wang SS, Bourquard N, Fogelman AM, Lusis AJ, Reddy ST. Decreased obesity and atherosclerosis in human paraoxonase 3 transgenic mice. *Circ Res*. 2007; 100(8):1200-7. [PMID: 17379834]
- Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994; 270(1):414-23. [PMID: 8035341]
- Shitara Y, Sugiyama Y. Pharmacokinetic and pharmacodynamic alterations of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors: drug-drug interactions and interindividual differences in transporter and metabolic enzyme functions. *Pharmacol Ther*. 2006; 112(1):71-105. [PMID: 16714062]
- Shugarts S, Benet LZ. The role of transporters in the pharmacokinetics of orally administered drugs. *Pharm Res*. 2009; 26(9):2039-54. [PMID: 19568696]

- Sidaway J, Wang Y, Marsden AM, Orton TC, Westwood FR, Azuma CT, Scott RC. Statin-induced myopathy in the rat: relationship between systemic exposure, muscle exposure and myopathy. *Xenobiotica*. 2009; 39(1):90-8. [PMID: 19219751]
- Siegel-Axel DI. Cerivastatin: a cellular and molecular drug for the future? *Cell Mol Life Sci*. 2003 Jan; 60(1):144-64. [PMID: 12613664]
- Siffert W, Forster P, Jöckel KH, Mvere DA, Brinkmann B, Naber C, Crookes R, Du P Heyns A, et al. Worldwide ethnic distribution of the G protein beta3 subunit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese, and Black African individuals. *J Am Soc Nephrol*. 1999a; 10(9):1921-30. [PMID: 10477144]
- Siffert W, Naber C, Walla M, Ritz E. G protein beta3 subunit 825T allele and its potential association with obesity in hypertensive individuals. *J Hypertens*. 1999b; 17(8):1095-8. [PMID: 10466464]
- Siffert W. G protein beta 3 subunit 825T allele, hypertension, obesity, and diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2000; 15(9):1298-306. Review. [PMID: 10978382]
- Siffert W. G protein polymorphisms in hypertension, atherosclerosis, and diabetes. *Annu Rev Med*. 2005; 56:17-28. [PMID: 15660499]
- Sigurbjörnsson S, Kjartansdóttir T, Jóhannsson M, Kristinsson J, Sigurdsson G. A pharmacokinetic evaluation of pravastatin in middle-aged and elderly volunteers. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 1998; 23(1):13-8. [PMID: 9625267]
- Sijbrands EJ, Lombardi MP, Westendorp RG, Leuven JA, Meinders AE, Van der Laarse A, et al. Similar response to simvastatin in patients heterozygous for familial hypercholesterolemia with mRNA negative and mRNA positive mutations. *Atherosclerosis*. 1998; 136(2):247-54. [PMID: 9543095]
- Sing K, Ballantyne CM, Ferlic L, Brugada R, Cushman I, Dunn JK, et al. Lipoprotein lipase gene mutations, plasma lipid levels, progression/regression of coronary atherosclerosis, response to therapy, and future clinical events. Lipoproteins and Coronary Atherosclerosis Study. *Atherosclerosis*. 1999; 144(2):435-42. [PMID: 10407505]
- Singer JB, Holdaas H, Jardine AG, Fellström B, Os I, Bermann G, et al., Assessment of Lescol in Renal Transplantation (ALERT) Study Investigators. Genetic analysis of fluvastatin response and dyslipidemia in renal transplant recipients. *J Lipid Res*. 2007; 48(9):2072-8. [PMID: 17563401]
- Siperstein MD, Fagan VM. Feedback control of mevalonate synthesis by dietary cholesterol. *J Biol Chem*. 1966; 241(3):602-9. [PMID: 5908125]
- Smrcka AV. G protein betagamma subunits: central mediators of G protein-coupled receptor signaling. *Cell Mol Life Sci*. 2008; 65(14):2191-214. [PMID: 18488142]
- Soldin OP, Mattison DR. Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacokinet*. 2009; 48(3):143-57. [PMID: 19385708]
- Sookoian S, Castaño GO, Burgueño AL, Gianotti TF, Rosselli MS, Pirola CJ. The nuclear receptor PXR gene variants are associated with liver injury in nonalcoholic fatty liver disease. *Pharmacogenet Genomics*. 2010; 20(1):1-8. [PMID: 19940802]
- Soranzo N, Cavalleri GL, Weale ME, Wood NW, Depondt C, Marguerie R, Sisodiya SM, Goldstein DB. Identifying candidate causal variants responsible for altered activity of the ABCB1 multidrug resistance gene. *Genome Res*. 2004; 14(7):1333-44. [PMID: 15197162]
- Soucek P, Gut I. Cytochromes P-450 in rats: structures, functions, properties and relevant human forms. *Xenobiotica*. 1992; 22(1):83-103. [PMID: 1615711]
- Souza-Costa DC, Sandrim VC, Lopes LF, Gerlach RF, Rego EM, Tanus-Santos JE. Anti-inflammatory effects of atorvastatin: modulation by the T-786C polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene. *Atherosclerosis*. 2007; 193(2):438-44. [PMID: 16938300]
- Sperling H, Eisenhardt A, Virchow S, Hauck E, Lenk S, Porst H, Stief C, Wetterauer U, Rubben H, Muller N, Siffert W. Sildenafil response is influenced by the G protein beta 3 subunit GNB3 C825T polymorphism: a pilot study. *J Urol*. 2003; 169(3):1048-51. [PMID: 12576843]
- Spurdle AB, Goodwin B, Hodgson E, Hopper JL, Chen X, Purdie DM, et al. The CYP3A4*1B polymorphism has no functional significance and is not associated with risk of breast or ovarian cancer. *Pharmacogenetics*. 2002; 12(5):355-66. [PMID: 12142725]
- Staffa JA, Chang J, Green L. Cerivastatin and reports of fatal rhabdomyolysis. *N Engl J Med*. 2002; 346(7):539-40. [PMID: 11844864]
- Stein EA. New statins and new doses of older statins. *Curr Atheroscler Rep*. 2001; 3(1):14-8. Review. [PMID: 11123843]
- Steinberg D, Fredrickson DS, Avigan J. Effects of 4-cholestenone in animals and in man. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1958; 97(4):784-90. [PMID: 13554482]
- Steinberg D, Avigan J, Feigelson EB. Effects of triparanol (MER-29) on cholesterol biosynthesis and on blood sterol levels in man. *J Clin Invest*. 1961; 40(5):884-93. [PMID: 16695861]
- Sun XM, Patel DD, Knight BL, Soutar AK. Influence of genotype at the low density lipoprotein (LDL) receptor gene locus on the clinical phenotype and response to lipid-lowering drug therapy in heterozygous familial hypercholesterolaemia. The Familial Hypercholesterolaemia Regression Study Group. *Atherosclerosis*. 1998; 136(1):175-85. [PMID: 9544745]
- Suzuki M, Suzuki H, Sugimoto Y, Sugiyama Y. ABCG2 transports sulfated conjugates of steroids and xenobiotics. *J Biol Chem*. 2003; 278(25):22644-9. [PMID: 12682043]
- Tabara Y, Kohara K, Miki T. Polymorphisms of genes encoding components of the sympathetic nervous system but not the renin-angiotensin system as risk factors for orthostatic hypotension. *J Hypertens*. 2002; 20(4):651-6. [PMID: 11910300]
- Tachibana-Iimori R, Tabara Y, Kusuhara H, Kohara K, Kawamoto R, Nakura J, et al. Effect of genetic polymorphism of OATP-C (SLCO1B1) on lipid-lowering response to HMG-CoA reductase inhibitors. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2004; 19(5):375-80. [PMID: 15548849]

- Tahara T, Arisawa T, Shibata T, Wang F, Nakamura M, Sakata M, Hirata I, Nakano H. Homozygous 825T allele of the GNB3 protein influences the susceptibility of Japanese to dyspepsia. *Dig Dis Sci*. 2008; 53(3):642-6. [PMID: 17717746]
- Takahashi-Yasuno A, Masuzaki H, Miyawaki T, Ogawa Y, Matsuoka N, Hayashi T, et al. Leptin receptor polymorphism is associated with serum lipid levels and impairment of cholesterol lowering effect by simvastatin in Japanese men. *Diabetes Res Clin Pract*. 2003; 62(3):169-75. [PMID: 14625131]
- Takane H, Miyata M, Burioka N, Shigemasa C, Shimizu E, Otsubo K, Ieiri I. Pharmacogenetic determinants of variability in lipid-lowering response to pravastatin therapy. *J Hum Genet*. 2006; 51(9):822-6. [PMID: 16917677]
- Takeda M, Noshiro R, Onozato ML, Tojo A, Hasannejad H, Huang XL, Narikawa S, Endou H. Evidence for a role of human organic anion transporters in the muscular side effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *Eur J Pharmacol*. 2004; 483(2-3):133-8. [PMID: 14729100]
- Tamai I, Takanaga H, Maeda H, Ogihara T, Yoneda M, Tsuji A. Proton-cotransport of pravastatin across intestinal brush-border membrane. *Pharm Res*. 1995; 12(11):1727-32. [PMID: 8592677]
- Tamai I, Nozawa T, Koshida M, Nezu J, Sai Y, Tsuji A. Functional characterization of human organic anion transporting polypeptide B (OATP-B) in comparison with liver-specific OATP-C. *Pharm Res*. 2001; 18(9):1262-9. [PMID: 11683238]
- Tang BK, Kalow W. Variable activation of lovastatin by hydrolytic enzymes in human plasma and liver. 4. *Eur J Clin Pharmacol*. 1995; 47(5):449-51. [PMID: 7720768]
- Tanzawa K, Kuroda M, Endo A. Time-dependent, irreversible inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase by the antibiotic citrinin. *Biochim Biophys Acta*. 1977; 488(1):97-101. [PMID: 889862]
- Tavintharan S, Lim SC, Chan YH, Sum CF. Apolipoprotein E genotype affects the response to lipid-lowering therapy in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2007; 9(1):81-6. [PMID: 17199722]
- Tetko IV, Tanchuk VY. Application of associative neural networks for prediction of lipophilicity in ALOGPS 2.1 program. *J Chem Inf Comput Sci*. 2002; 42(5):1136-45. [PMID: 12377001]
- Thompson GR, O'Neill F, Seed M. Why some patients respond poorly to statins and how this might be remedied. *Eur Heart J*. 2002; 23(3):200-6. [PMID: 11792134]
- Thompson JF, Man M, Johnson KJ, Wood LS, Lira ME, Lloyd DB, et al. An association study of 43 SNPs in 16 candidate genes with atorvastatin response. *Pharmacogenomics J*. 2005; 5(6):352-8. [PMID: 16103896]
- Thompson JF, Hyde CL, Wood LS, Paciga SA, Hinds DA, Cox DR, Hovingh GK, Kastelein JJP. Comprehensive Whole-Genome and Candidate Gene Analysis for Response to Statin Therapy in the Treating to New Targets (TNT) Cohort. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009; 2:173-181. [PMID: 20031582]
- Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, Walters GB, Gudbjartsson DF, Stefansson H et al. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science*. 2007; 317(5843):1397-400. [PMID: 17690259]
- Tokui T, Nakai D, Nakagomi R, Yawo H, Abe T, Sugiyama Y. Pravastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, is transported by rat organic anion transporting polypeptide, oatp2. *Pharm Res*. 1999; 16(6):904-8. [PMID: 10397612]
- Tomás M, Sentí M, García-Faria F, Vila J, Torrents A, Covas M, Marrugat J. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20(9):2113-9. [PMID: 10978257]
- Tomkins GM, Sheppard H, Chaikoff IL. Cholesterol synthesis by liver. IV. Suppression by steroid administration. *J Biol Chem*. 1953; 203(2):781-6. [PMID: 13084647]
- Tuccori M, Lapi F, Testi A, Coli D, Moretti U, Vannacci A, et al. Statin-associated psychiatric adverse events: a case/non-case evaluation of an Italian database of spontaneous adverse drug reaction reporting. *Drug Saf*. 2008; 31(12):1115-23. [PMID: 19026028]
- Turban S, Fuentes F, Ferlic L, Brugada R, Gotto AM, Ballantyne CM, Marian AJ. A prospective study of paraoxonase gene Q/R192 polymorphism and severity, progression and regression of coronary atherosclerosis, plasma lipid levels, clinical events and response to fluvastatin. *Atherosclerosis*. 2001; 154(3):633-40. [PMID: 11257264]
- Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E. C825T polymorphism of the G protein beta(3)-subunit and antihypertensive response to a thiazide diuretic. *Hypertension*. 2001; 37(2 Part 2):739-43. [PMID: 11230366]
- Uhl K. Advancing women's health in the 21st century: applying the tools of clinical pharmacology. *Clin Pharmacol Ther*. 2008; 83(1):3-7. [PMID: 18165819]
- Ujike H, Nomura A, Morita Y, Morio A, Okahisa Y, Kotaka T, Kodama M, Ishihara T, Kuroda S. Multiple genetic factors in olanzapine-induced weight gain in schizophrenia patients: a cohort study. *J Clin Psychiatry*. 2008; 69(9):1416-22. [PMID: 19193342]
- Uno Y, Kumano T, Kito G, Nagata R, Kamataki T, Fujino H. CYP2C76-mediated species difference in drug metabolism: a comparison of pitavastatin metabolism between monkeys and humans. *Xenobiotica*. 2007; 37(1):30-43. [PMID: 17178632]
- van Acker BA, Botma GJ, Zwinderman AH, Kuivenhoven JA, Dallinga-Thie GM, Sijbrands EJ et al., REGRESS Study Group. High HDL cholesterol does not protect against coronary artery disease when associated with combined cholesteryl ester transfer protein and hepatic lipase gene variants. *Atherosclerosis*. 2008; 200(1):161-7. [PMID: 18164013]
- van Lelyveld N, Linde JT, Schipper M, Samsom M. Candidate genotypes associated with functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil*. 2008; 20(7):767-73. [PMID: 18331431]

- van Venrooij FV, Stolk RP, Banga JD, Sijmonsma TP, van Tol A, Erkelens DW, Dallinga-Thie GM; DALI Study Group. Common cholesteryl ester transfer protein gene polymorphisms and the effect of atorvastatin therapy in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2003; 26(4):1216-23. [PMID: 12663600]
- Vickers S, Duncan CA, Chen IW, Rosegay A, Duggan DE. Metabolic disposition studies on simvastatin, a cholesterol-lowering prodrug. *Drug Metab Dispos*. 1990a; 18(2):138-45. [PMID: 1971563]
- Vickers S, Duncan CA, Vyas KP, Kari PH, Arison B, Prakash SR, Ramjit HG, Pitzemberger SM, Stokker G, Duggan DE. In vitro and in vivo biotransformation of simvastatin, an inhibitor of HMG CoA reductase. *Drug Metab Dispos*. 1990b; 18(4):476-83. [PMID: 1976071]
- Vladutiu GD, Simmons Z, Isackson PJ, Tarnopolsky M, Peltier WL, Barboi AC, et al. Genetic risk factors associated with lipid-lowering drug-induced myopathies. *Muscle Nerve*. 2006; 34(2):153-62. [PMID: 16671104]
- Vohl MC, Szots F, Lelièvre M, Lupien PJ, Bergeron J, Gagné C, Couture P. Influence of LDL receptor gene mutation and apo E polymorphism on lipoprotein response to simvastatin treatment among adolescents with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2002; 160(2):361-8. [PMID: 11849659]
- von Beckerath N, Schusterschitz Y, Koch W, Griesser K, Mehili J, Gorchakova O, Schömig A, Kastrati A. G protein beta 3 subunit 825T allele carriage and risk of coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2003; 167(1):135-9. [PMID: 12618278]
- Voora D, Shah SH, Reed CR, Zhai J, Crosslin DR, Messer C, et al. Pharmacogenetic Predictors of Statin-Mediated Low-Density Lipoprotein Cholesterol Reduction and Dose Response. *Circ Cardiovasc Genet* 2008; 1(2):100-6. [PMID: 20031551]
- Voora D, Shah SH, Spasojevic I, Ali S, Reed CR, Salisbury BA, Ginsburg GS. The SLC01B1*5 genetic variant is associated with statin-induced side effects. *J Am Coll Cardiol*. 2009; 54(17):1609-16. [PMID: 19833260]
- Vormfelde SV, Toliat MR, Schirmer M, Meineke I, Nürnberg P, Brockmöller J. The polymorphisms Asn130Asp and Val174Ala in OATP1B1 and the CYP2C9 allele *3 independently affect torsemide pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther*. 2008; 83(6):815-7. [PMID: 18043684]
- Vuorio AF, Ojala JP, Sarna S, Turtola H, Tikkanen MJ, Kontula K. Heterozygous familial hypercholesterolemia: the influence of the mutation type of the low-density-lipoprotein receptor gene and PvuII polymorphism of the normal allele on serum lipid levels and response to lovastatin treatment. *J Intern Med*. 1995; 237(1):43-8. [PMID: 7830029]
- Vyas KP, Kari PH, Wang RW, Lu AY. Biotransformation of lovastatin--III. Effect of cimetidine and famotidine on in vitro metabolism of lovastatin by rat and human liver microsomes. *Biochem Pharmacol*. 1990; 39(1):67-73. [PMID: 2297361]
- Walsh JM, Pignone M. Drug treatment of hyperlipidemia in women. *JAMA*. 2004; 291(18):2243-52. [PMID: 15138247]
- Walter DH, Schächinger V, Elsner M, Mach S, Dimmeler S, Auch-Schwelk W, Zeiher AM. Statin therapy is associated with reduced restenosis rates after coronary stent implantation in carriers of the PI(A2)allele of the platelet glycoprotein IIIa gene. *Eur Heart J*. 2001; 22(7):587-95. [PMID: 11259146]
- Wang RW, Kari PH, Lu AY, Thomas PE, Guengerich FP, Vyas KP. Biotransformation of lovastatin. IV. Identification of cytochrome P450 3A proteins as the major enzymes responsible for the oxidative metabolism of lovastatin in rat and human liver microsomes. *Arch Biochem Biophys*. 1991; 290(2):355-61. [PMID: 1929403]
- Wang E, Casciano CN, Clement RP, Johnson WW. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) characterized as direct inhibitors of P-glycoprotein. *Pharm Res*. 2001a; 18(6):800-6. [PMID: 11474784]
- Wang EJ, Casciano CN, Clement RP, Johnson WW. Active transport of fluorescent P-glycoprotein substrates: evaluation as markers and interaction with inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001b; 289(2):580-5. [PMID: 11716514]
- Wang A, Yu BN, Luo CH, Tan ZR, Zhou G, Wang LS, et al. Ile118Val genetic polymorphism of CYP3A4 and its effects on lipid-lowering efficacy of simvastatin in Chinese hyperlipidemic patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2005; 60(12):843-8. [PMID: 15650881]
- Ward S, Lloyd Jones M, Pandor A, Holmes M, Ara R, Ryan A, Yeo W, Payne N. A systematic review and economic evaluation of statins for the prevention of coronary events. *Health Technol Assess*. 2007; 11(14):1-160. [PMID: 17408535]
- Wascher TC, Paulweber B, Malaimare L, Stadlmayr A, Iglseder B, Schmoelzer I, Renner W. Associations of a human G protein beta3 subunit dimorphism with insulin resistance and carotid atherosclerosis. *Stroke*. 2003; 34(3):605-9. [PMID: 12624279]
- Watanabe T, Kusuhara H, Maeda K, Shitara Y, Sugiyama Y. Physiologically based pharmacokinetic modeling to predict transporter-mediated clearance and distribution of pravastatin in humans. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009; 328(2):652-62. [PMID: 19001154]
- Waxman DJ, Holloway MG. Sex differences in the expression of hepatic drug metabolizing enzymes. *Mol Pharmacol*. 2009; 76(2):215-28. [PMID: 19483103]
- Weinshilboum R. Inheritance and drug response. *N Engl J Med*. 2003; 348(6):529-37. [PMID: 12571261]
- Wettschureck N, Offermanns S. Mammalian G proteins and their cell type specific functions. *Physiol Rev*. 2005; 85(4):1159-204. [PMID: 16183910]
- Wierzbicki AS, Poston R, Ferro A. The lipid and non-lipid effects of statins. *Pharmacol Ther*. 2003; 99(1):95-112. [PMID: 12804701]
- Wilke RA, Reif DM, Moore JH. Combinatorial pharmacogenetics. *Nat Rev Drug Discov*. 2005; 4(11):911-8. [PMID: 16264434]

- Williams JA, Andersson T, Andersson TB, Blanchard R, Behm MO, Cohen N, Edeki T, Franc M, Hillgren KM, Johnson KJ, Katz DA, Milton MN, Murray BP, Polli JW, Ricci D, Shipley LA, Vangala S, Wrighton SA. PhRMA white paper on ADME pharmacogenomics. *J Clin Pharmacol*. 2008; 48(7):849-89. [PMID: 18524998]
- Willmann S, Höhn K, Edginton A, Sevestre M, Solodenko J, Weiss W et al. Development of a physiology-based whole-body population model for assessing the influence of individual variability on the pharmacokinetics of drugs. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2007; 34(3):401-31. [PMID: 17431751]
- Willrich MA, Hirata MH, Hirata RD. Statin regulation of CYP3A4 and CYP3A5 expression. *Pharmacogenomics*. 2009; 10(6):1017-24. [PMID: 19530969]
- Wills AM, Cronin S, Slowik A, Kasperaviciute D, Van Es MA, Morahan JM, et al. A large-scale international meta-analysis of paraoxonase gene polymorphisms in sporadic ALS. *Neurology*. 2009; 73(1):16-24. [PMID: 19321847]
- Winkelmann BR, Hoffmann MM, Nauck M, Kumar AM, Nandabalan K, Judson RS, et al. Haplotypes of the cholesteryl ester transfer protein gene predict lipid-modifying response to statin therapy. *Pharmacogenomics J*. 2003; 3(5):284-96. [PMID: 14583798]
- Winnier DA, Rainwater DL, Cole SA, Williams JT, Dyer TD, Blangero J, MacCluer JW, Mahaney MC. Sex-specific QTL effects on variation in paraoxonase 1 (PON1) activity in Mexican Americans. *Genet Epidemiol*. 2007; 31(1):66-74. [PMID: 17136774]
- Wishart DS, Knox C, Guo AC, Cheng D, Shrivastava S, Tzur D, Gautam B, Hassanali M. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. *Nucleic Acids Res*. 2008; 36(Database issue):D901-6. [PMID: 18048412]
- Wist AD, Berger SI, Iyengar R. Systems pharmacology and genome medicine: a future perspective. *Genome Med*. 2009; 1(1):11. [PMID: 19348698]
- Wizemann TM, Pardue ML, editors. Exploring the biological contributions to human health: does sex matter? Washington, DC: National Academies Press, 2001. Disponible en: http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10028#toc (accedido el 18 de enero de 2010).
- WHO (World Health Organization). Health topics: Cardiovascular diseases. (WHO, Geneva, Switzerland, 2008). Disponible en: http://www.who.int/topics/cardiovascular_diseases/en/index.html (accedido el 10 de abril de 2009). WHO, 2008
- Wojnowski L. Genetics of the variable expression of CYP3A in humans. *Ther Drug Monit*. 2004; 26(2):192-9. [PMID: 15228164]
- Wrighton SA, Schuetz EG, Thummel KE, Shen DD, Korzekwa KR, Watkins PB. The human CYP3A subfamily: practical considerations. *Drug Metab Rev*. 2000; 32(3-4):339-61. [PMID: 11139133]
- Wu X, Whitfield LR, Stewart BH. Atorvastatin transport in the Caco-2 cell model: contributions of P-glycoprotein and the proton-monocarboxylic acid co-transporter. *Pharm Res*. 2000; 17(2):209-15. [PMID: 10751037]
- Wu MH, Chen P, Wu X, Liu W, Strom S, Das S, Cook EH Jr, Rosner GL, Dolan ME. Determination and analysis of single nucleotide polymorphisms and haplotype structure of the human carboxylesterase 2 gene. *Pharmacogenetics*. 2004; 14(9):595-605. [PMID: 15475733]
- Wu X, Jin L, Xiong M. Mutual information for testing gene-environment interaction. *PLoS One*. 2009; 4(2):e4578. [PMID: 19238204]
- Xu J, Langefeld CD, Zheng SL, Gillanders EM, Chang BL, Isaacs SD et al. Interaction effect of PTEN and CDKN1B chromosomal regions on prostate cancer linkage. *Hum Genet*. 2004; 115(3):255-62. [PMID: 15185141]
- Xu C, Wang X, Staudinger JL. Regulation of tissue-specific carboxylesterase expression by pregnane x receptor and constitutive androstane receptor. *Drug Metab Dispos*. 2009; 37(7):1539-47. [PMID: 19359405]
- Yates JW. Structural identifiability of physiologically based pharmacokinetic models. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2006; 33(4):421-39. [PMID: 16568353]
- Ye P, Shang Y, Ding X. The influence of apolipoprotein B and E gene polymorphisms on the response to simvastatin therapy in patients with hyperlipidemia. *Chin Med Sci J*. 2003; 18(1):9-13. [PMID: 12901521]
- Ying S, Sun YM, Liu XM, An CY, Gao YY. Effect of ScrF I polymorphism in the 2nd intron of the HMGCR gene on lipid-lowering response to simvastatin in Chinese diabetic patients. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 363(2):395-8. [PMID: 17870053]
- Young JH, Chang YP, Kim JD, Chretien JP, Klag MJ, Levine MA, et al. Differential susceptibility to hypertension is due to selection during the out-of-Africa expansion. *PLoS Genet*. 2005; 1(6):e82. [PMID: 16429165]
- Zambon A, Deeb SS, Brown BG, Hokanson JE, Brunzell JD. Common hepatic lipase gene promoter variant determines clinical response to intensive lipid-lowering treatment. *Circulation*. 2001; 103(6):792-8. [PMID: 11171785]
- Zhang J, Kuehl P, Green ED, Touchman JW, Watkins PB, Daly A, Hall SD, Maurel P, et al. The human pregnane X receptor: genomic structure and identification and functional characterization of natural allelic variants. *Pharmacogenetics*. 2001; 11(7):555-72. [PMID: 11668216]
- Zhang W, Yu BN, He YJ, Fan L, Li Q, Liu ZQ, et al. Role of BCRP 421C>A polymorphism on rosuvastatin pharmacokinetics in healthy Chinese males. *Clin Chim Acta*. 2006; 373(1-2):99-103. [PMID: 16784736]
- Zhang W, Chen BL, Ozdemir V, He YJ, Zhou G, Peng DD, et al. SLC01B1 521T-->C functional genetic polymorphism and lipid-lowering efficacy of multiple-dose pravastatin in Chinese coronary heart disease patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2007; 64(3):346-52. [PMID: 17439540]

- Zhang B, Xie W, Krasowski MD. PXR: a xenobiotic receptor of diverse function implicated in pharmacogenetics. *Pharmacogenomics*. 2008; 9(11):1695-709. [PMID: 19018724]
- Zhou SF. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica*. 2008; 38(7-8):802-32. [PMID: 18668431]
- Zhu W, Song L, Zhang H, Matoney L, LeCluyse E, Yan B. Dexamethasone differentially regulates expression of carboxylesterase genes in humans and rats. *Drug Metab Dispos*. 2000; 28(2):186-91. [PMID: 10640517]
- Zill P, Baghai TC, Zwanzger P, Schüle C, Minov C, Riedel M, Neumeier K, Rupprecht R, Bondy B. Evidence for an association between a G-protein beta3-gene variant with depression and response to antidepressant treatment. *Neuroreport*. 2000; 11(9):1893-7. [PMID: 10884039]
- Zintzaras E, Kitsios GD, Triposkiadis F, Lau J, Raman G. APOE gene polymorphisms and response to statin therapy. *Pharmacogenomics J*. 2009; 9(4):248-57. [PMID: 19529002]
- Zito F, Lowe GD, Rumley A, McMahon AD, Humphries SE; WOSCOPS Study Group West of Scotland Coronary Prevention Study. Association of the factor XII 46C>T polymorphism with risk of coronary heart disease (CHD) in the WOSCOPS study. *Atherosclerosis*. 2002; 165(1):153-8. [PMID: 12208481]
- Zuccaro P, Mombelli G, Calabresi L, Baldassarre D, Palmi I, Sirtori CR. Tolerability of statins is not linked to CYP450 polymorphisms, but reduced CYP2D6 metabolism improves cholestaemic response to simvastatin and fluvastatin. *Pharmacol Res*. 2007; 55(4):310-7. [PMID: 17289397]
- Zwarts KY, Clee SM, Zwinderman AH, Engert JC, Singaraja R, Loubser O, et al. ABCA1 regulatory variants influence coronary artery disease independent of effects on plasma lipid levels. *Clin Genet*. 2002; 61(2):115-25. [PMID: 11940086]

A1.1.- Área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo de los 5 ensayos clínicos de bioequivalencia de las estatinas pravastatina, simvastatina y lovastatina

91-PRA

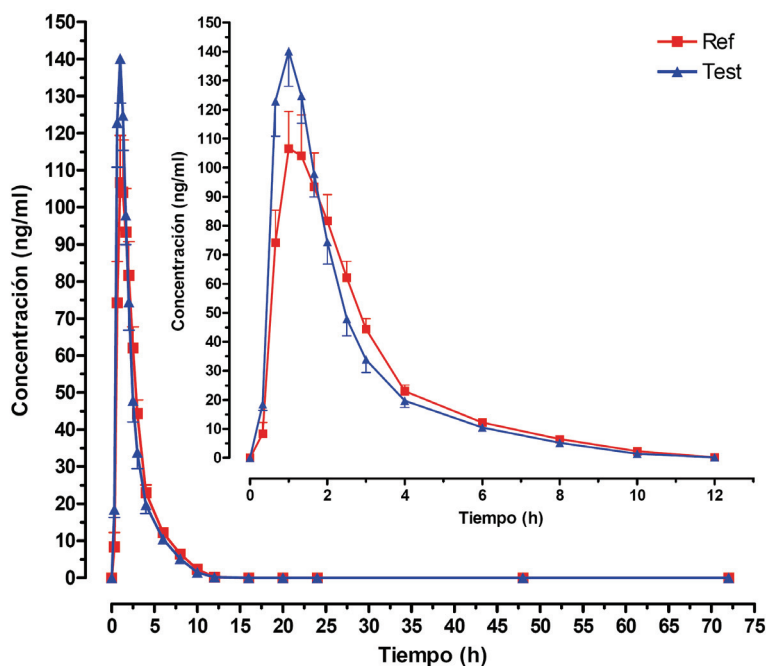


Figura A1.1. Representación gráfica del área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo de las formulaciones test y referencia de pravastatina del ensayo 91-PRA (n=36). Cada punto representa la media y su desviación estándar. En el recuadro interior se representan a mayor aumento las 12 primeras horas.

84-SIM

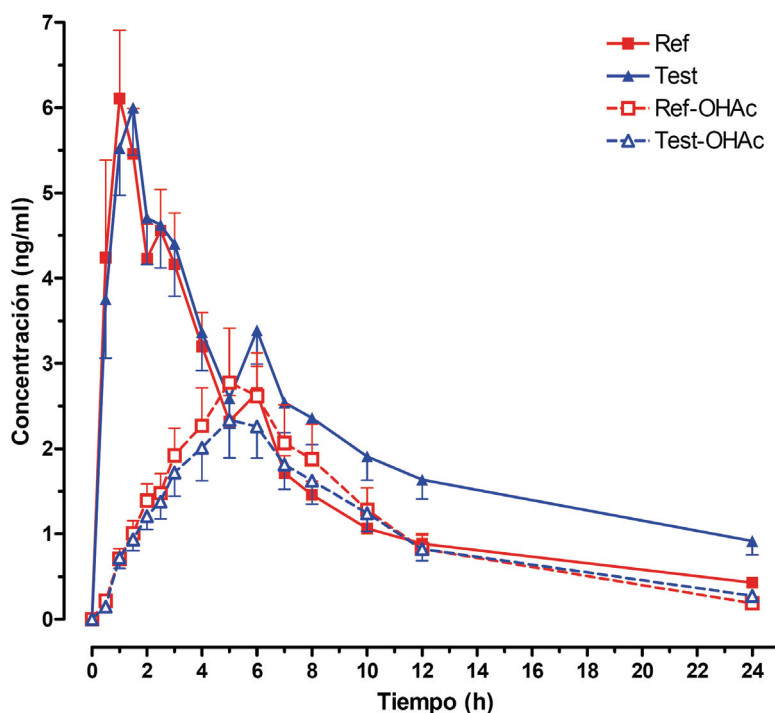


Figura A1.2. Representación gráfica del área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo de las formulaciones test y referencia de simvastatina y su hidroxilado (OHAc) del ensayo 84-SIM (n=36). Cada punto representa la media y su desviación estándar.

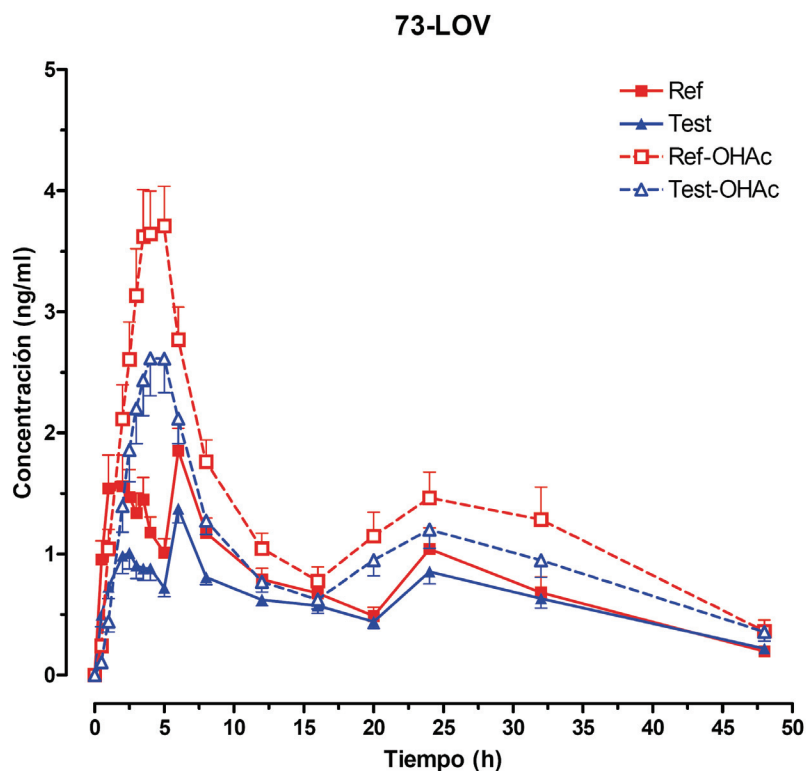


Figura A1.3. Representación gráfica del área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo de las formulaciones test y referencia de lovastatina y su hidroxiácido (OHAc) del ensayo 73-LOV (n=36). Cada punto representa la media y su desviación estándar.

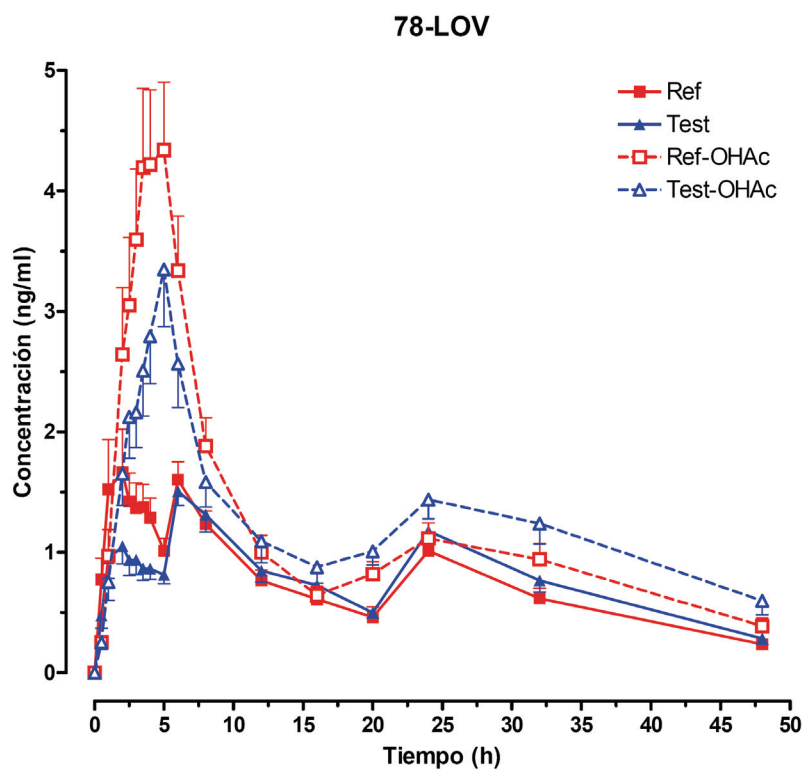


Figura A1.4. Representación gráfica del área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo de las formulaciones test y referencia de lovastatina y su hidroxiácido (OHAc) del ensayo 78-LOV (n=36). Cada punto representa la media y su desviación estándar.

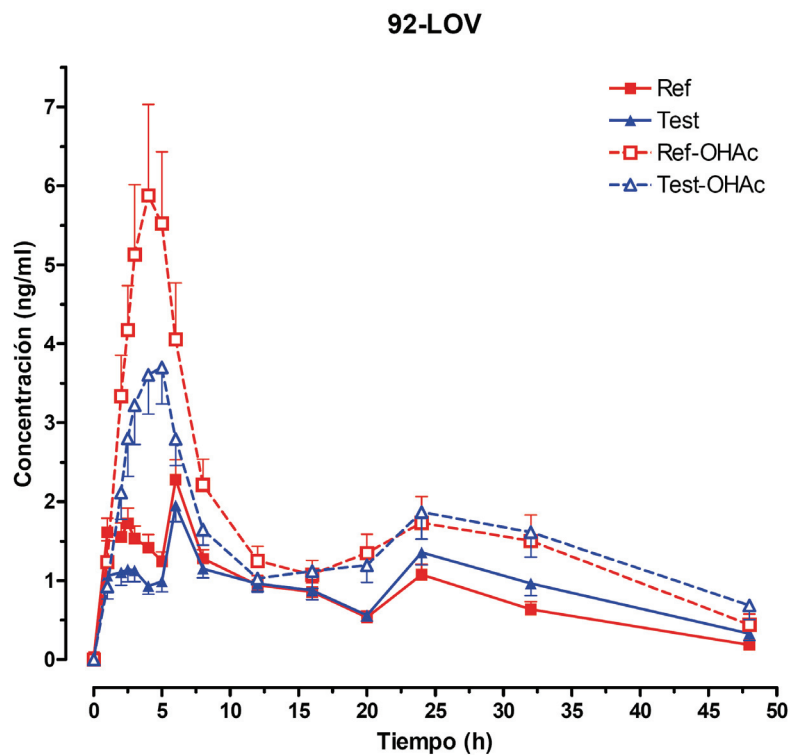


Figura A1.5. Representación gráfica del área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo de las formulaciones test y referencia de lovastatina y su hidroxíácido (OHAc) del ensayo 92-LOV (n=36). Cada punto representa la media y su desviación estándar.

A1.2.- Sintaxis para SPSS 15.0 de los modelos lineales mixtos de medidas repetidas (LMMR) y los de regresión lineal multivariante (RLM)

1.- Modelos lineales mixtos de medidas repetidas (LMMR)

1.1.- Codificación de las variables independientes

```
ind = individuo;
for = formulación;
per = periodo;
sec = secuencia;
ec = ensayo clínico;
sex = sexo;
s_1 = SNP1;
s_2 = SNP2;
s_3 = SNP3;
s_4 = SNP4;
s_5 = SNP5;
s_6 = SNP6;
s_7 = SNP7;
s_8 = SNP8;
s_9 = SNP9;
s_10 = SNP10;
s_11 = SNP11;
s_12 = SNP12;
s_13 = SNP13;
s_14 = SNP14;
s_15 = SNP15;
```

1.2.- Los cuatro modelos LMMR empleados en 91-PRA y 84-SIM

1.2.1.- Modelo 1

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI) .
```

1.2.2.- Modelo 2

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec sex
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI) .
```

1.2.3.- Modelo 3

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec s_1
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_1 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_1) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_1) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec s_2
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_2 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_2) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_2) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec s_3
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_3 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_3) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_3) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec s_4
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_4 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_4) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_4) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec s_5
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
```



```

PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_5 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_5) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_5) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec s_6
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_6 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_6) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_6) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec s_7
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_7 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_7) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_7) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec s_8
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_8 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_8) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_8) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec s_9
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_9 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_9) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)

```

```
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_9) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec s_10
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_10 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_10) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_10) COMPARE REFCAT(1) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec s_11
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_11 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_11) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_11) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec s_12
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_12 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_12) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_12) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec s_13
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_13 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_13) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_13) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec s_14
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
```

```

SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_14 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_14) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_14) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec s_15
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec s_15 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_15) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_15) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

1.2.4.- Modelo 4

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec sex s_1
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_1 s_1*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_1) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_1*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_1) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec sex s_2
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_2 s_2*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_2) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_2*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_2) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec sex s_3
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)

```

```
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_3 s_3*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_3) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_3*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_3) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec sex s_4
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_4 s_4*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_4) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_4*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_4) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec sex s_5
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_5 s_5*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_5) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_5*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_5) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec sex s_6
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_6 s_6*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_6) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_6*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_6) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec sex s_7
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
```

```

PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_7 s_7*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_7) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_7*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_7) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec sex s_8
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_8 s_8*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_8) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_8*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_8) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec sex s_9
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_9 s_9*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_9) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_9*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_9) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec sex s_10
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_10 s_10*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_10) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_10*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_10) COMPARE REFCAT(1) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind for per sec sex s_11
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)

```

```
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_11 s_11*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_11) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_11*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_11) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec sex s_12
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.00000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_12 s_12*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_12) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_12*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_12) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec sex s_13
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.00000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_13 s_13*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_13) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_13*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_13) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec sex s_14
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.00000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_14 s_14*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_14) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_14*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_14) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind for per sec sex s_15
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.00000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
```

```

PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = for per sec sex s_15 s_15*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_15) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_15*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_15) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

1.3.- Los cuatro modelos LMMR empleados en 3-LOVs

1.3.1.- Modelo 1

```

MIXED
"variable PK" BY ind ec for per sec
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI) .

```

1.3.2.- Modelo 2

```

MIXED
"variable PK" BY ind ec for per sec sex
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI) .

```

1.3.3.- Modelo 3

```

MIXED
"variable PK" BY ind ec for per sec s_1
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_1 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_1) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)

```

```
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_1) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_2
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_2 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_2) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_2) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_3
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_3 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_3) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_3) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_4
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_4 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_4) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_4) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_5
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_5 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_5) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_5) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```


MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_6
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_6 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_6) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_6) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_7
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_7 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_7) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_7) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_8
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_8 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_8) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_8) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_9
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_9 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_9) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_9) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_10
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
```

```
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_10 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_10) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_10) COMPARE REFCAT(1) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_11
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_11 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_11) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_11) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_12
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_12 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_12) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_12) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_13
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_13 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_13) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_13) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec s_14
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_14 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
```

```

/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_14) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_14) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

MIXED
"variable PK" BY ind ec for per sec s_15
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1) SINGULAR
(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE) PCONVERGE
(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_15 | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*s_15) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_15) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

1.3.4.- Modelo 4

```

MIXED
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_1
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_1 s_1*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_1) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_1*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_1) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

```

MIXED
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_2
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_2 s_2*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_2) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_2*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_2) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

```

MIXED
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_3
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)

```

```
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_3 s_3*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_3) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_3*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_3) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_4
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_4 s_4*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_4) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_4*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_4) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_5
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_5 s_5*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_5) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_5*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_5) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_6
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_6 s_6*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_6) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_6*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_6) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_7
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_7 s_7*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_7) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_7*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_7) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_8
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_8 s_8*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_8) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_8*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_8) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_9
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_9 s_9*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_9) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_9*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_9) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_10
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_10 s_10*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_10) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
```

```
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_10*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_10) COMPARE REFCAT(1) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_11
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_11 s_11*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_11) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_11*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_11) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_12
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_12 s_12*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_12) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_12*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_12) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_13
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_13 s_13*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_13) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_13*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_13) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .
```

MIXED

```
"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_14
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec sex s_14 s_14*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_14) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
```

```

/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_14*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_14) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

MIXED

```

"variable PK" BY ind ec for per sec sex s_15
/CRITERIA = CIN(95) MXITER(3000) MXSTEP(5) SCORING(1)
SINGULAR(0.000000000001) HCONVERGE(0, ABSOLUTE) LCONVERGE(0, ABSOLUTE)
PCONVERGE(0.000001, ABSOLUTE)
/FIXED = ec for per sec s_15 s_15*sex | SSTYPE(3)
/METHOD = REML
/PRINT = CPS CORB COVB DESCRIPTIVES G LMATRIX R SOLUTION TESTCOV
/RANDOM ind(sec*sex*s_15) | SUBJECT(ind) COVTYPE(VC)
/REPEATED = per | SUBJECT(ind) COVTYPE(DIAG)
/SAVE = PRED RESID
/EMMEANS = TABLES(OVERALL)
/EMMEANS = TABLES(ec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(for) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(per) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sec) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(sex) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/EMMEANS = TABLES(s_15*sex)
/EMMEANS = TABLES(s_15) COMPARE REFCAT(0) ADJ(BONFERRONI) .

```

2.- Modelos de regresión lineal multivariante (RLM)

2.1.- Codificación de las variables independientes

```

ec = ensayo clínico;
sex = sexo;
s_1 = SNP1;
s_2 = SNP2;
s_3 = SNP3;
s_4 = SNP4;
s_5 = SNP5;
s_6 = SNP6;
s_7 = SNP7;
s_8 = SNP8;
s_9 = SNP9;
s_10 = SNP10;
s_11 = SNP11;
s_12 = SNP12;
s_13 = SNP13;
s_14 = SNP14;
s_15 = SNP15;
auct_dp_t = AUCt de la lactona ajustado por mg/kg total (formulación T+R);
cl_t = aclaramiento de la lactona (ml/min/kg) total (formulación T+R);
t_post = tiempo en días post administración en el 2º periodo del estudio;
bsl_col = niveles basales de colesterol total (mg/dl);
oh_auct_dp_t = AUCt del hidroxiácido ajustado por mg/kg total (formulación T+R);
mr_t = "metabolic ratio" o cosciente metabólico total (formulación T+R);

```

2.2.- Modelos de RLM empleados en 91-PRA y 84-SIM

2.2.1.- Variables farmacocinéticas (PK)

- Todos

```

REGRESSION
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)

```

```
/NOORIGIN
/DEPENDENT "variable PK"
/METHOD=STEPWISE sex s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12
s_13 s_14 s_15
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```

- Hombres

```
REGRESSION
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N
/SELECT= sex EQ 1
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)
/NOORIGIN
/DEPENDENT "variable PK"
/METHOD=STEPWISE s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12 s_13
s_14 s_15
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```

- Mujeres

```
REGRESSION
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N
/SELECT= sex EQ 2
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)
/NOORIGIN
/DEPENDENT "variable PK"
/METHOD=STEPWISE s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12 s_13
s_14 s_15
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```

2.2.2.- Variables farmacodinámicas (PD)

2.2.2.1.- 91-PRA

- Todos

```
REGRESSION
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)
/NOORIGIN
/DEPENDENT "variable PD"
/METHOD=STEPWISE sex s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12
s_13 s_14 s_15 auct_dp_t cl_t t_post bsl_col
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```

- Hombres

```
REGRESSION
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N
/SELECT= sex EQ 1
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)
/NOORIGIN
/DEPENDENT "variable PD"
/METHOD=STEPWISE s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12 s_13
s_14 s_15 auct_dp_t cl_t t_post bsl_col
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```

- Mujeres

```
REGRESSION
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N
```



```

/SELECT= sex EQ 2
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)
/NOORIGIN
/DEPENDENT "variable PD"
/METHOD=STEPWISE s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12 s_13
s_14 s_15 auct_dp_t cl_t t_post bsl_col
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .

```

2.2.2.2.- 84-SIM

- Todos

```

REGRESSION
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)
/NOORIGIN
/DEPENDENT "variable PD"
/METHOD=STEPWISE s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12
s_13 s_14 s_15 bsl_col t_post auct_dp_t oh_auct_dp_t cl_t mr_t sex
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .

```

- Hombres

```

REGRESSION
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N
/SELECT= sex EQ 1
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)
/NOORIGIN
/DEPENDENT "variable PD"
/METHOD=STEPWISE s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12
s_13 s_14 s_15 bsl_col t_post auct_dp_t oh_auct_dp_t cl_t mr_t
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .

```

- Mujeres

```

REGRESSION
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N
/SELECT= sex EQ 2
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)
/NOORIGIN
/DEPENDENT "variable PD"
/METHOD=STEPWISE s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12
s_13 s_14 s_15 bsl_col t_post auct_dp_t oh_auct_dp_t cl_t mr_t
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .

```

2.3.- Modelos de RLM empleados en 3-LOVs

2.3.1.- Variables farmacocinéticas (PK)

- Todos

```

REGRESSION
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)
/NOORIGIN
/DEPENDENT "variable PK"
/METHOD=STEPWISE ec sex s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11
s_12 s_13 s_14 s_15

```

```
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )  
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```

- **Hombres**

```
REGRESSION  
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N  
/SELECT= sex EQ 1  
/MISSING PAIRWISE  
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP  
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)  
/NOORIGIN  
/DEPENDENT "variable PK"  
/METHOD=STEPWISE ec s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12  
s_13 s_14 s_15  
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )  
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```

- **Mujeres**

```
REGRESSION  
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N  
/SELECT= sex EQ 2  
/MISSING PAIRWISE  
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP  
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)  
/NOORIGIN  
/DEPENDENT "variable PK"  
/METHOD=STEPWISE ec s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12  
s_13 s_14 s_15  
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )  
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```

2.3.2.- Variables farmacodinámicas (PD)

- **Todos**

```
REGRESSION  
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N  
/MISSING PAIRWISE  
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP  
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)  
/NOORIGIN  
/DEPENDENT "variable PD"  
/METHOD=STEPWISE ec s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12  
s_13 s_14 s_15 bsl_col t_post auct_dp_t oh_auct_dp_t cl_t mr_t sex  
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )  
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```

- **Hombres**

```
REGRESSION  
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N  
/SELECT= sex EQ 1  
/MISSING PAIRWISE  
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP  
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)  
/NOORIGIN  
/DEPENDENT "variable PD"  
/METHOD=STEPWISE ec s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12  
s_13 s_14 s_15 bsl_col t_post auct_dp_t oh_auct_dp_t cl_t mr_t  
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )  
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```

- **Mujeres**

```
REGRESSION  
/DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N  
/SELECT= sex EQ 2  
/MISSING PAIRWISE  
/STATISTICS COEFF OUTS CI BCOV R ANOVA COLLIN TOL CHANGE ZPP  
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)  
/NOORIGIN  
/DEPENDENT "variable PD"  
/METHOD=STEPWISE ec s_1 s_2 s_3 s_4 s_5 s_6 s_7 s_8 s_9 s_10 s_11 s_12
```

```
s_13 s_14 s_15 bsl_col t_post auct_dp_t oh_auct_dp_t cl_t mr_t  
/SCATTERPLOT=(*ZRESID ,*ZPRED )  
/RESIDUALS HIST(ZRESID) NORM(ZRESID) .
```


A2.1.- Comparación de los individuos con genotipo válido entre la población de estudio (CFC-ESP) y la caucasiana de HapMap (HapMap-CEU) y entre hombres y mujeres en CFC-ESP, 3-LOVs, 84-SIM y 91-PRA

Tabla A2.1. Comparación de los individuos con genotipo no indeterminado (válido) entre la población de estudio (CFC-ESP) y la caucasiana de HapMap (HapMap-CEU).

Polimorfismos	CFC-ESP (n=207)		HapMap-CEU (n=60)		CFC-ESP vs HapMap-CEU	
	Muestras con genotipo válido		Muestras con genotipo válido		Diferencia media	p*
	n	% (IC95%)	n	% (IC95%)	% (IC95%)	
SNP1	207	100 (97.73 – 100)	60	100 (92.50 – 100)	0 (-2.27 – 7.50)	ns
SNP2	206	99.52 (96.93 – 99.98)	60	100 (92.50 – 100)	-0.48 (-3.08 – 7.03)	ns
SNP3	206	99.52 (96.93 – 99.98)	60	100 (92.50 – 100)	-0.48 (-3.08 – 7.03)	ns
SNP4	204	98.55 (95.48 – 99.62)	60	100 (92.50 – 100)	-1.45 (-4.52 – 6.12)	ns
SNP5	207	100 (97.73 – 100)	58	96.67 (87.46 – 99.42)	3.33 (-0.24 – 12.55)	ns
SNP6	207	100 (97.73 – 100)	58	96.67 (87.46 – 99.42)	3.33 (-0.24 – 12.55)	ns
SNP7	205	99.03 (96.18 – 99.83)	58	96.67 (87.46 – 99.42)	2.37 (-1.60 – 11.62)	ns
SNP8	206	99.52 (96.93 – 99.98)	58	96.67 (87.46 – 99.42)	2.85 (-0.93 – 12.08)	ns
SNP9	206	99.52 (96.93 – 99.98)	60	100 (92.50 – 100)	-0.48 (-3.08 – 7.03)	ns
SNP10	206	99.52 (96.93 – 99.98)	60	100 (92.50 – 100)	-0.48 (-3.08 – 7.03)	ns
SNP11	207	100 (97.73 – 100)	60	100 (92.50 – 100)	0 (-2.27 – 7.50)	ns
SNP12	204	98.55 (95.48 – 99.62)	60	100 (92.50 – 100)	-1.45 (-4.52 – 6.12)	ns
SNP13	204	98.55 (95.48 – 99.62)	60	100 (92.50 – 100)	-1.45 (-4.52 – 6.12)	ns
SNP14	205	99.03 (96.18 – 99.83)	60	100 (92.50 – 100)	-0.97 (-3.82 – 6.57)	ns
SNP15	205	99.03 (96.18 – 99.83)	60	100 (92.50 – 100)	-0.97 (-3.82 – 6.57)	ns

* χ^2 (bilateral); ns: no significativo

Tabla A2.2. Comparación de las muestras con genotipo no indeterminado (válido) entre hombres y mujeres de la población de estudio (CFC-ESP).

Polimorfismos	Hombres (n=106)		Mujeres (n=101)		Hombres vs Mujeres	
	Muestras con genotipo válido		Muestras con genotipo válido		Diferencia media % (IC95%)	p*
	n	% (IC95%)	n	% (IC95%)		
SNP1	106	100 (95.64 – 100)	101	100 (95.43 – 100)	0 (-4.36 – 4.57)	ns
SNP2	105	99.06 (94.1 – 99.95)	101	100 (95.43 – 100)	-0.94 (-5.90 – 3.71)	ns
SNP3	105	99.06 (94.1 – 99.95)	101	100 (95.43 – 100)	-0.94 (-5.90 – 3.71)	ns
SNP4	104	98.11 (92.68 – 99.67)	100	99.01 (93.82 – 99.95)	-0.9 (-6.41 – 4.52)	ns
SNP5	106	100 (95.64 – 100)	101	100 (95.43 – 100)	0 (-4.36 – 4.57)	ns
SNP6	106	100 (95.64 – 100)	101	100 (95.43 – 100)	0 (-4.36 – 4.57)	ns
SNP7	104	98.11 (92.68 – 99.67)	101	100 (95.43 – 100)	-1.89 (-7.32 – 2.94)	ns
SNP8	105	99.06 (94.1 – 99.95)	101	100 (95.43 – 100)	-0.94 (-5.90 – 3.71)	ns
SNP9	105	99.06 (94.1 – 99.95)	101	100 (95.43 – 100)	-0.94 (-5.90 – 3.71)	ns
SNP10	106	100 (95.64 – 100)	100	99.01 (93.82 – 99.95)	0.99 (-3.47 – 6.18)	ns
SNP11	106	100 (95.64 – 100)	101	100 (95.43 – 100)	0 (-4.36 – 4.57)	ns
SNP12	104	98.11 (92.68 – 99.67)	100	99.01 (93.82 – 99.95)	-0.9 (-6.41 – 4.52)	ns
SNP13	104	98.11 (92.68 – 99.67)	100	99.01 (93.82 – 99.95)	-0.9 (-6.41 – 4.52)	ns
SNP14	105	99.06 (94.1 – 99.95)	100	99.01 (93.82 – 99.95)	0.05 (-5.00 – 5.31)	ns
SNP15	104	98.11 (92.68 – 99.67)	101	100 (95.43 – 100)	-1.89 (-7.32 – 2.94)	ns

* χ^2 (bilateral); ns: no significativo

Tabla A2.3. Comparación de las muestras con genotipo no indeterminado (válido) entre hombres y mujeres de los ensayos con lovastatina (3-LOVs).

Polimorfismos	Hombres (n=51)		Mujeres (n=49)		Hombres vs Mujeres	
	Muestras con genotipo válido		Muestras con genotipo válido		Diferencia media	p*
	n	% (IC95%)	n	% (IC95%)	% (IC95%)	
SNP1	51	100 (91.27 – 100)	49	100 (90.94 – 100)	0 (-8.73 – 9.06)	ns
SNP2	50	98.04 (88.21 – 99.90)	49	100 (90.94 – 100)	-1.96 (-11.79 – 7.28)	ns
SNP3	50	98.04 (88.21 – 99.90)	49	100 (90.94 – 100)	-1.96 (-11.79 – 7.28)	ns
SNP4	49	96.08 (85.41 – 99.32)	48	97.96 (87.76 – 99.89)	-1.88 (-12.72 – 8.82)	ns
SNP5	51	100 (91.27 – 100)	49	100 (90.94 – 100)	0 (-8.73 – 9.06)	ns
SNP6	51	100 (91.27 – 100)	49	100 (90.94 – 100)	0 (-8.73 – 9.06)	ns
SNP7	49	96.08 (85.41 – 99.32)	49	100 (90.94 – 100)	-3.92 (-14.59 – 5.70)	ns
SNP8	51	100 (91.27 – 100)	49	100 (90.94 – 100)	0 (-8.73 – 9.06)	ns
SNP9	50	98.04 (88.21 – 99.90)	49	100 (90.94 – 100)	-1.96 (-11.79 – 7.28)	ns
SNP10	51	100 (91.27 – 100)	48	97.96 (87.76 – 99.89)	2.04 (-6.90 – 12.24)	ns
SNP11	51	100 (91.27 – 100)	49	100 (90.94 – 100)	0 (-8.73 – 9.06)	ns
SNP12	50	98.04 (88.21 – 99.90)	48	97.96 (87.76 – 99.89)	0.08 (-9.94 – 10.44)	ns
SNP13	50	98.04 (88.21 – 99.90)	48	97.96 (87.76 – 99.89)	0.08 (-9.94 – 10.44)	ns
SNP14	50	98.04 (88.21 – 99.90)	48	97.96 (87.76 – 99.89)	0.08 (-9.94 – 10.44)	ns
SNP15	49	96.08 (85.41 – 99.32)	49	100 (90.94 – 100)	-3.92 (-14.59 – 5.70)	ns

* χ^2 (bilateral); ns: no significativo

Tabla A2.4. Comparación de las muestras con genotipo no indeterminado (válido) entre hombres y mujeres del ensayo con simvastatina (84-SIM).

Polimorfismos	Hombres (n=18)		Mujeres (n=18)		Hombres vs Mujeres	
	Muestras con genotipo válido		Muestras con genotipo válido		Diferencia media % (IC95%)	p*
	n	% (IC95%)	n	% (IC95%)		
SNP1	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP2	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP3	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP4	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP5	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP6	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP7	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP8	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP9	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP10	18	100 (78.12 – 100)	17	94.44 (70.62 – 99.71)	5.56 (-16.94 – 29.37)	ns
SNP11	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP12	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP13	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP14	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP15	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns

* χ^2 (bilateral); ns: no significativo

Tabla A2.5. Comparación de las muestras con genotipo no indeterminado (válido) entre hombres y mujeres del ensayo con pravastatina (91-PRA).

Polimorfismos	Hombres (n=18)		Mujeres (n=18)		Hombres vs Mujeres	
	Muestras con genotipo válido		Muestras con genotipo válido		Diferencia media	p*
	n	% (IC95%)	n	% (IC95%)	% (IC95%)	
SNP1	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP2	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP3	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP4	17	94.44 (70.62 – 99.71)	18	100 (78.12 – 100)	-5.56 (-29.37 – 16.94)	ns
SNP5	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP6	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP7	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP8	17	94.44 (70.62 – 99.71)	18	100 (78.12 – 100)	-5.56 (-29.37 – 16.94)	ns
SNP9	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP10	18	100 (78.12 – 100)	17	94.44 (70.62 – 99.71)	5.56 (-16.94 – 29.37)	ns
SNP11	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP12	17	94.44 (70.62 – 99.71)	18	100 (78.12 – 100)	-5.56 (-29.37 – 16.94)	ns
SNP13	17	94.44 (70.62 – 99.71)	18	100 (78.12 – 100)	-5.56 (-29.37 – 16.94)	ns
SNP14	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns
SNP15	18	100 (78.12 – 100)	18	100 (78.12 – 100)	0 (-21.88 – 21.88)	ns

* χ^2 (bilateral); ns: no significativo

A2.2.- Variables farmacocinéticas de pravastatina (91-PRA), simvastatina (84-SIM) y lovastatina (3-LOVs)

Tabla A2.6. Variables farmacocinéticas de pravastatina (91-PRA).						
Variable PK	Media*	DE	CV%	Min	Mediana	Max
C_{max} (ng/ml)	153.99	79.90	51.89	51.03	135.64	462.29
C_{max_p} (ng/ml/kg)	2.44	1.42	58.47	0.80	1.97	7.46
C_{max_p70} (ng/ml/kg·70)	170.53	99.71	58.47	55.73	138.23	521.94
C_{max_dp} (ng/ml/mg/kg)	248.76	120.65	48.50	77.57	234.86	716.55
AUC_t (ng·h/ml)	303.70	146.50	48.24	98.17	274.74	830.81
AUC_p (ng/ml/kg)	4.80	2.62	54.65	1.51	3.79	13.40
AUC_{p70} (ng/ml/kg·70)	335.89	183.56	54.65	105.93	265.44	938.01
AUC_{dp} (ng/ml/mg/kg)	491.52	225.62	45.90	151.76	468.63	1287.76
Cl/F (ml/min/kg)	41.92	20.65	49.26	12.94	35.60	109.82
t_{1/2} (h)	2.39	1.43	59.77	0.65	1.87	6.67

CV%, coeficiente de variación en %; DE, desviación estándar; Min, mínimo; Max, máximo;

* Se ofrecen los valores promedio de todos los voluntarios (n=36) para ambas formulaciones (referencia y test, n=36x2).

Tabla A2.7. Variables farmacocinéticas de simvastatina (84-SIM).						
Variable PK*	Media*	DE	CV%	Min	Mediana	Max
Lactona						
C_{max} (ng/ml)	8.86	5.05	57.07	2.27	7.71	35.17
C_{max_p} (ng/ml/kg)	0.14	0.09	60.84	0.03	0.11	0.52
C_{max_p70} (ng/ml/kg·70)	9.83	5.98	60.84	1.92	7.82	36.74
C_{max_dp} (ng/ml/mg/kg)	14.27	8.17	57.23	3.09	12.84	58.91
AUC_t (ng·h/ml)	44.85	25.93	57.82	6.38	36.80	109.08
AUC_p (ng/ml/kg)	0.70	0.42	60.27	0.12	0.53	1.97
AUC_{p70} (ng/ml/kg·70)	48.98	29.52	60.27	8.42	37.17	137.83
AUC_{dp} (ng/ml/mg/kg)	73.27	42.78	58.39	8.45	59.64	181.89
Cl/F (ml/min/kg)	338.37	288.19	85.17	91.63	279.72	1972.48
Hidroxiácido						
C_{max} (ng/ml)	2.91	3.24	111.30	0.37	2.05	19.84
C_{max_p} (ng/ml/kg)	0.05	0.05	108.36	0.01	0.03	0.29
C_{max_p70} (ng/ml/kg·70)	3.22	3.49	108.36	0.39	2.23	19.95
C_{max_dp} (ng/ml/mg/kg)	4.70	5.43	115.59	0.63	3.43	34.52
AUC_t (ng·h/ml)	24.23	25.85	106.72	1.97	18.31	153.03
AUC_p (ng/ml/kg)	0.38	0.40	104.30	0.03	0.26	2.20
AUC_{p70} (ng/ml/kg·70)	26.72	27.87	104.30	2.04	18.47	153.91
AUC_{dp} (ng/ml/mg/kg)	39.20	43.23	110.29	3.33	27.18	266.27
MR (u.a.)	0.65	0.60	92.14	0.06	0.42	2.86

CV%, coeficiente de variación en %; DE, desviación estándar; Min, mínimo; Max, máximo; u.a., unidades arbitrarias;

* Se ofrecen los valores promedio de todos los voluntarios (n=36) para ambas formulaciones (referencia y test, n=36x2).

Tabla A2.8. Variables farmacocinéticas de lovastatina (3-LOVs).						
Variable PK	Media*	DE	CV%	Min	Mediana	Max
Lactona						
C_{max} (ng/ml)	2.49	1.57	63.03	0.37	2.18	14.23
C_{max_p} (ng/ml/kg)	0.04	0.02	62.01	0.01	0.03	0.22
C_{max_p70} (ng/ml/kg·70)	2.63	1.63	62.01	0.49	2.28	15.10
C_{max_dp} (ng/ml/mg/kg)	4.23	2.91	68.79	0.49	3.44	23.49
AUC_t (ng·h/ml)	35.96	20.10	55.90	4.20	33.56	134.13
AUC_{t_p} (ng/ml/kg)	0.55	0.30	54.89	0.07	0.49	1.85
AUC_{t_p70} (ng/ml/kg·70)	38.35	21.05	54.89	4.71	34.42	129.33
AUC_{t_dp} (ng/ml/mg/kg)	60.77	38.79	63.83	5.19	53.95	243.45
Cl/F (ml/min/kg)	406.32	341.45	84.04	68.46	308.94	3209.99
Hidroxiácido						
C_{max} (ng/ml)	4.81	4.15	86.29	0.40	3.47	39.83
C_{max_p} (ng/ml/kg)	0.08	0.07	90.63	0.00	0.06	0.63
C_{max_p70} (ng/ml/kg·70)	5.32	4.83	90.63	0.30	3.85	43.98
C_{max_dp} (ng/ml/mg/kg)	7.78	6.47	83.17	0.73	6.15	63.13
AUC_t (ng·h/ml)	61.71	51.31	83.15	5.25	49.78	398.08
AUC_{t_p} (ng/ml/kg)	0.97	0.83	85.81	0.06	0.74	6.28
AUC_{t_p70} (ng/ml/kg·70)	67.93	58.29	85.81	4.09	51.66	439.52
AUC_{t_dp} (ng/ml/mg/kg)	100.39	82.53	82.21	7.72	80.68	630.96
MR (u.a.)	1.91	1.46	76.33	0.09	1.51	10.44

CV%, coeficiente de variación en %; DE, desviación estándar; Min, mínimo; Max, máximo; u.a., unidades arbitrarias;

* Se ofrecen los valores promedio de todos los voluntarios (n=100) de tres ensayos clínicos de bioequivalencia (73-LOV, 78-LOV y 92-LOV) para ambas formulaciones (referencia y test, n=100x2).

A2.3.- Diagramas de caja de los polimorfismos sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en las variables cinéticas de pravastatina (91-PRA), simvastatina (84-SIM) y lovastatina (3-LOVs) predicha por el modelo 3.

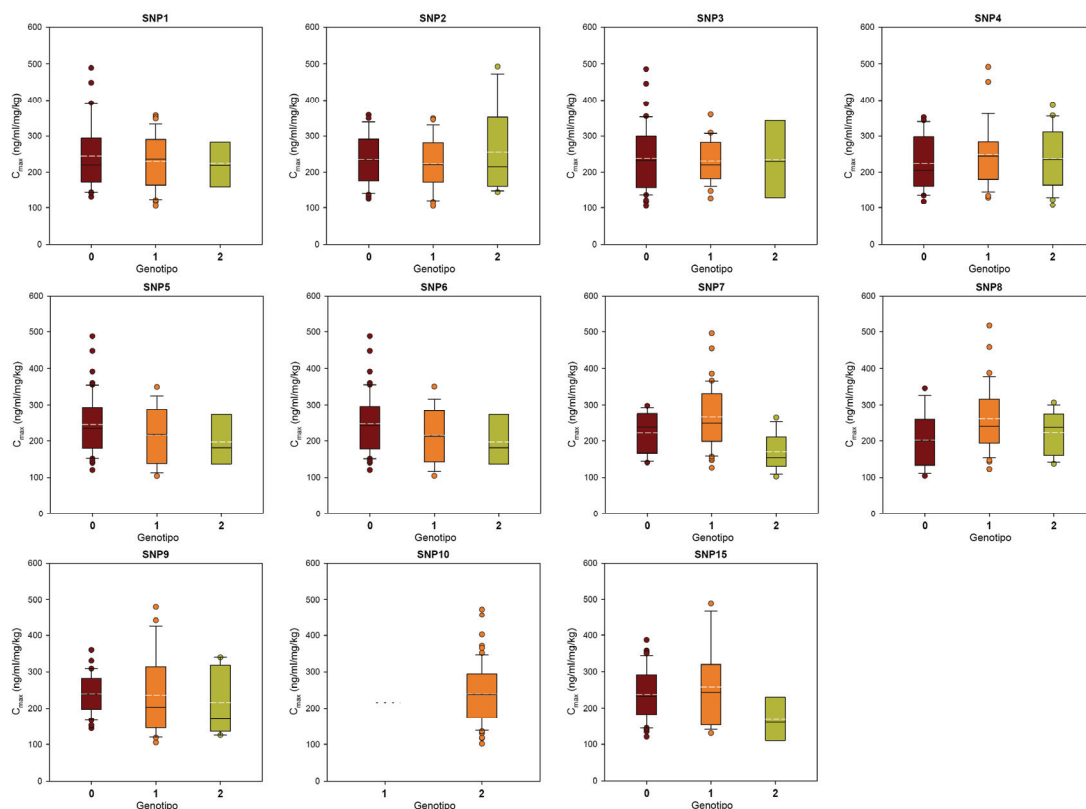


Figura A2.1. Diagramas de caja de los 11 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en la C_{max} (ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal) de pravastatina (91-PRA) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: "0" $n=15$, "1" $n=17$, "2" $n=4$; *SNP2*: "0" $n=17$, "1" $n=12$, "2" $n=7$; *SNP3*: "0" $n=21$, "1" $n=13$, "2" $n=2$; *SNP4*: "0" $n=10$, "1" $n=14$, "2" $n=11$; *SNP5*: "0" $n=26$, "1" $n=7$, "2" $n=3$; *SNP6*: "0" $n=25$, "1" $n=8$, "2" $n=3$; *SNP7*: "0" $n=9$, "1" $n=20$, "2" $n=7$; *SNP8*: "0" $n=7$, "1" $n=19$, "2" $n=9$; *SNP9*: "0" $n=20$, "1" $n=11$, "2" $n=5$; *SNP10*: "0" $n=0$, "1" $n=1$, "2" $n=34$; *SNP15*: "0" $n=26$, "1" $n=7$, "2" $n=3$).

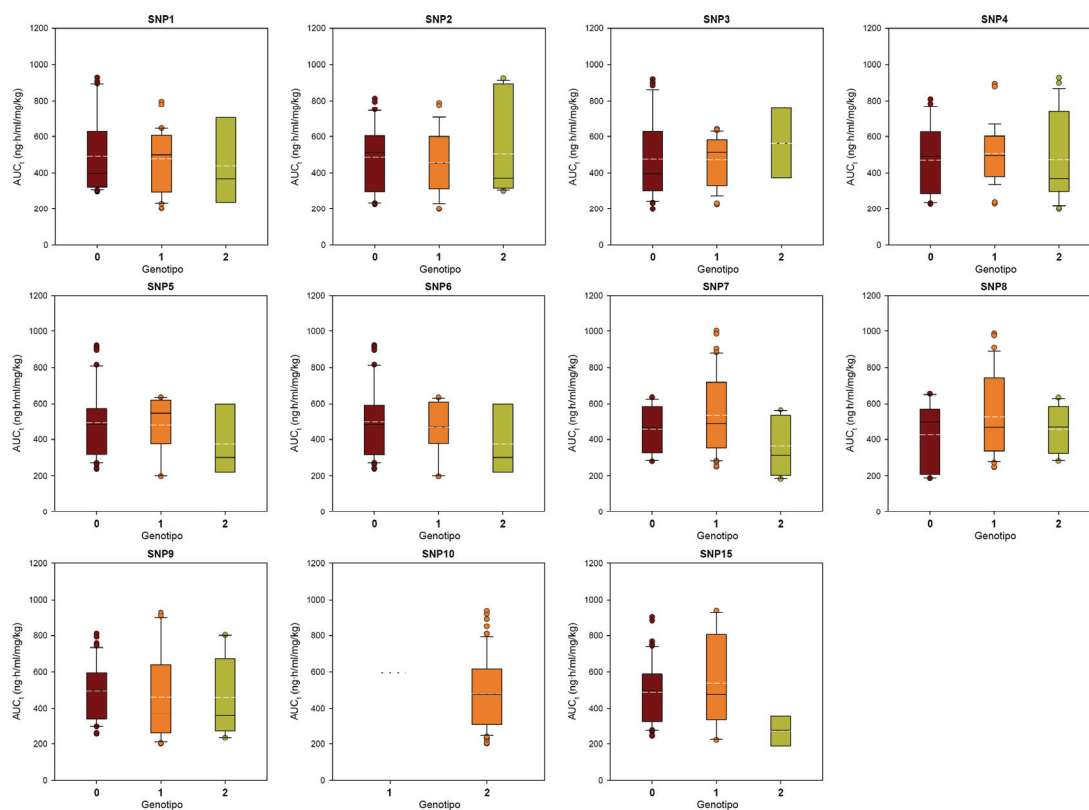


Figura A2.2. Diagramas de caja de los 11 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en el AUC_t (ajustado por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal) de pravastatina (91-PRA) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: "0" $n=15$, "1" $n=17$, "2" $n=4$; *SNP2*: "0" $n=17$, "1" $n=12$, "2" $n=7$; *SNP3*: "0" $n=21$, "1" $n=13$, "2" $n=2$; *SNP4*: "0" $n=10$, "1" $n=14$, "2" $n=11$; *SNP5*: "0" $n=26$, "1" $n=7$, "2" $n=3$; *SNP6*: "0" $n=25$, "1" $n=8$, "2" $n=3$; *SNP7*: "0" $n=9$, "1" $n=20$, "2" $n=7$; *SNP8*: "0" $n=7$, "1" $n=19$, "2" $n=9$; *SNP9*: "0" $n=20$, "1" $n=11$, "2" $n=5$; *SNP10*: "0" $n=0$, "1" $n=1$, "2" $n=34$; *SNP15*: "0" $n=26$, "1" $n=7$, "2" $n=3$).

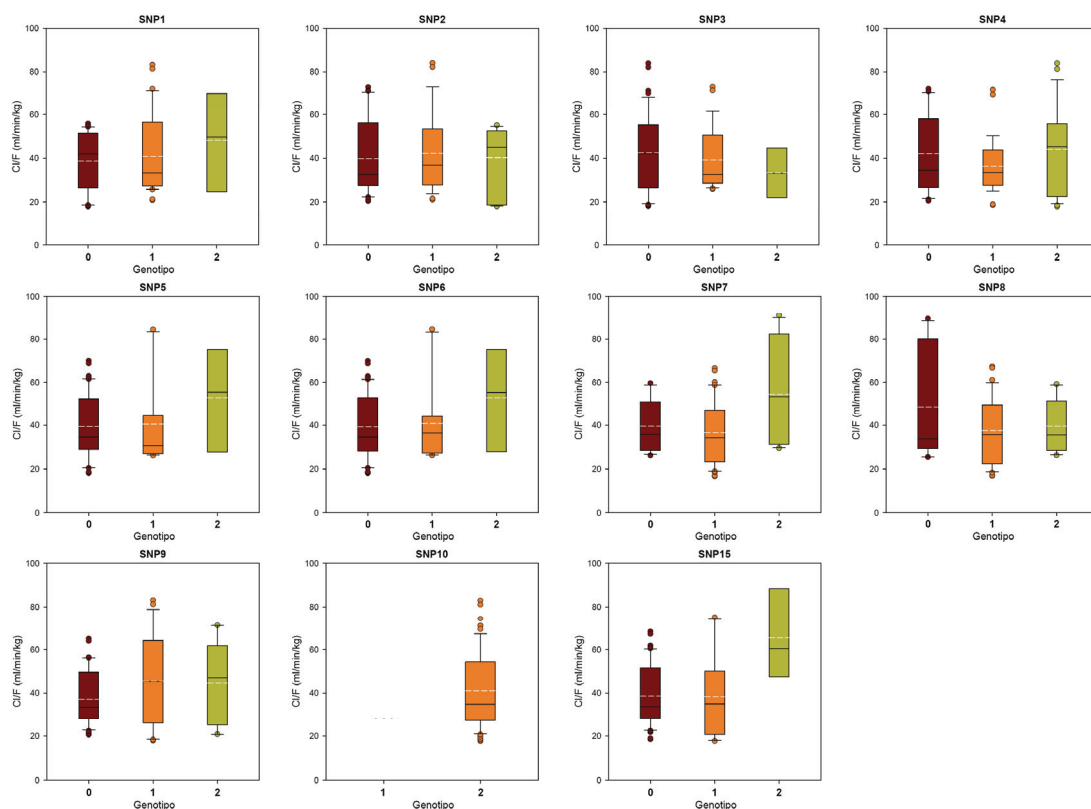


Figura A2.3. Diagramas de caja de los 11 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en el Cl/F (ajustado por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal) de pravastatina (91-PRA) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $nx2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: "0" $n=15$, "1" $n=17$, "2" $n=4$; *SNP2*: "0" $n=17$, "1" $n=12$, "2" $n=7$; *SNP3*: "0" $n=21$, "1" $n=13$, "2" $n=2$; *SNP4*: "0" $n=10$, "1" $n=14$, "2" $n=11$; *SNP5*: "0" $n=26$, "1" $n=7$, "2" $n=3$; *SNP6*: "0" $n=25$, "1" $n=8$, "2" $n=3$; *SNP7*: "0" $n=9$, "1" $n=20$, "2" $n=7$; *SNP8*: "0" $n=7$, "1" $n=19$, "2" $n=9$; *SNP9*: "0" $n=20$, "1" $n=11$, "2" $n=5$; *SNP10*: "0" $n=0$, "1" $n=1$, "2" $n=34$; *SNP15*: "0" $n=26$, "1" $n=7$, "2" $n=3$).

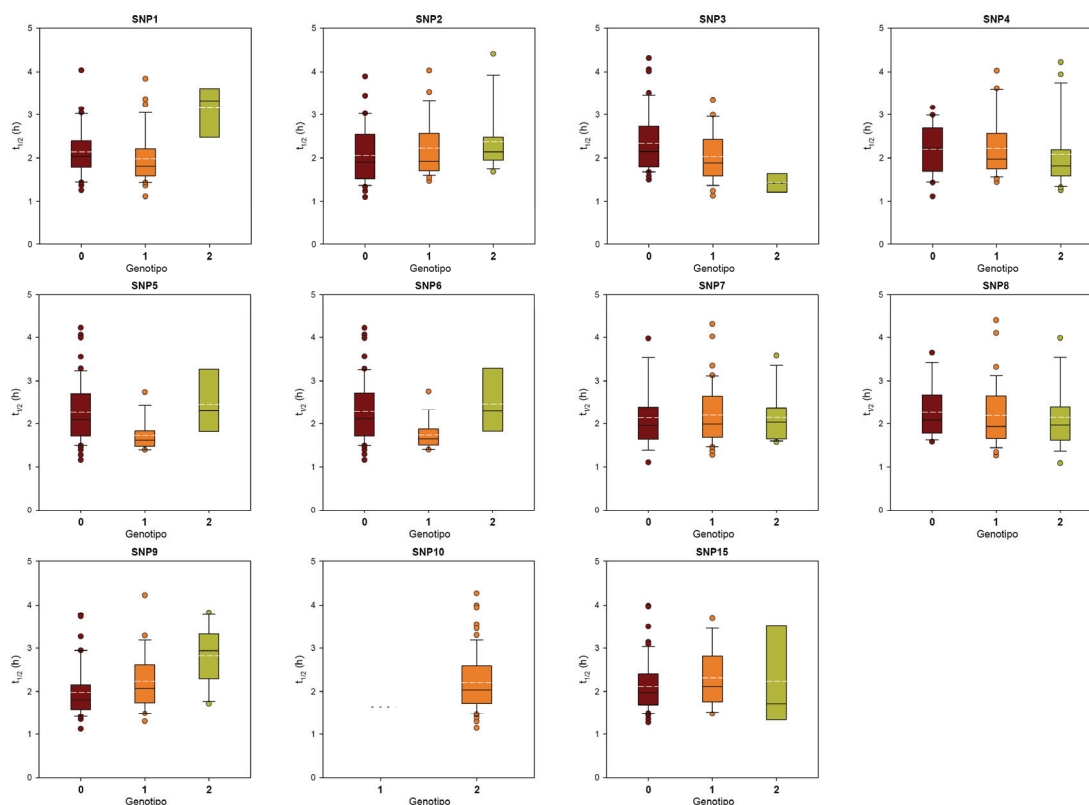


Figura A2.4. Diagramas de caja de los 11 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en la $t_{1/2}$ (ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal) de pravastatina (91-PRA) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: "0" $n=15$, "1" $n=17$, "2" $n=4$; *SNP2*: "0" $n=17$, "1" $n=12$, "2" $n=7$; *SNP3*: "0" $n=21$, "1" $n=13$, "2" $n=2$; *SNP4*: "0" $n=10$, "1" $n=14$, "2" $n=11$; *SNP5*: "0" $n=26$, "1" $n=7$, "2" $n=3$; *SNP6*: "0" $n=25$, "1" $n=8$, "2" $n=3$; *SNP7*: "0" $n=9$, "1" $n=20$, "2" $n=7$; *SNP8*: "0" $n=7$, "1" $n=19$, "2" $n=9$; *SNP9*: "0" $n=20$, "1" $n=11$, "2" $n=5$; *SNP10*: "0" $n=0$, "1" $n=1$, "2" $n=34$; *SNP15*: "0" $n=26$, "1" $n=7$, "2" $n=3$).

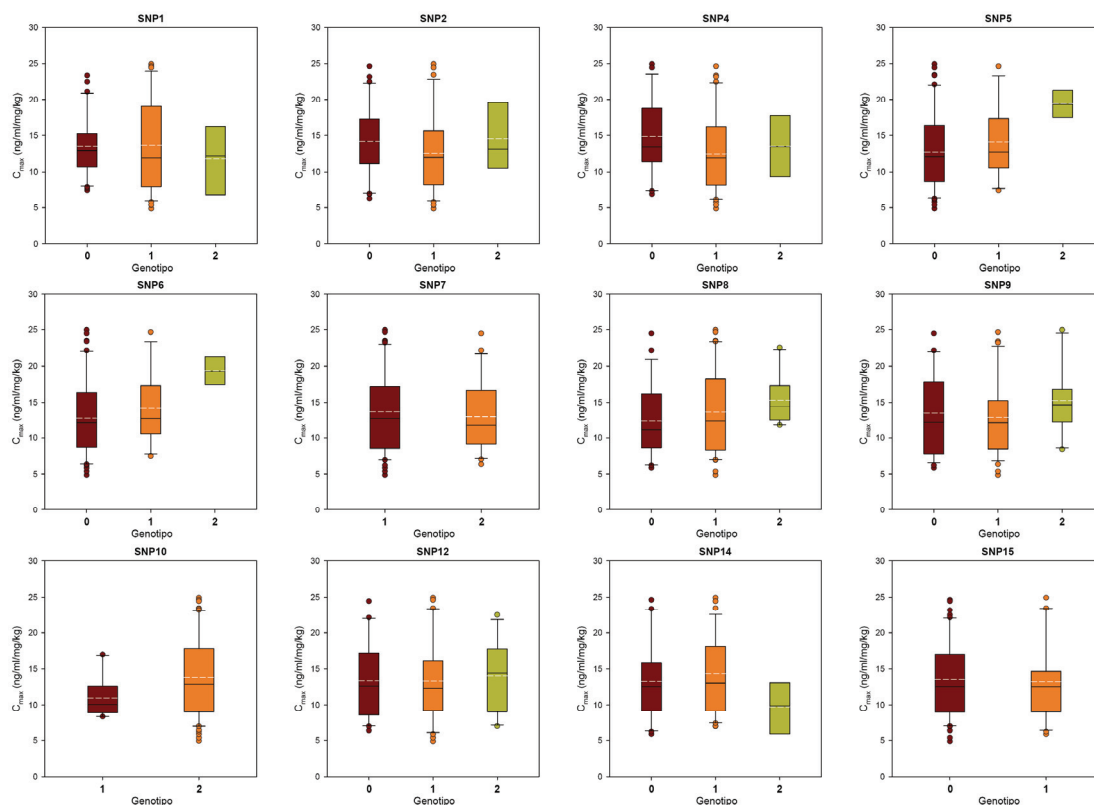


Figura A2.5. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en la C_{max} (ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal) de simvastatina (84-SIM) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $nx2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=16$, “1” $n=17$, “2” $n=3$; *SNP2*: “0” $n=15$, “1” $n=17$, “2” $n=4$; *SNP4*: “0” $n=14$, “1” $n=20$, “2” $n=2$; *SNP5*: “0” $n=25$, “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP6*: “0” $n=25$, “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP7*: “0” $n=0$, “1” $n=26$, “2” $n=10$; *SNP8*: “0” $n=11$, “1” $n=20$, “2” $n=5$; *SNP9*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=5$, “2” $n=30$; *SNP12*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP14*: “0” $n=13$, “1” $n=19$, “2” $n=4$; *SNP15*: “0” $n=26$, “1” $n=10$, “2” $n=0$).

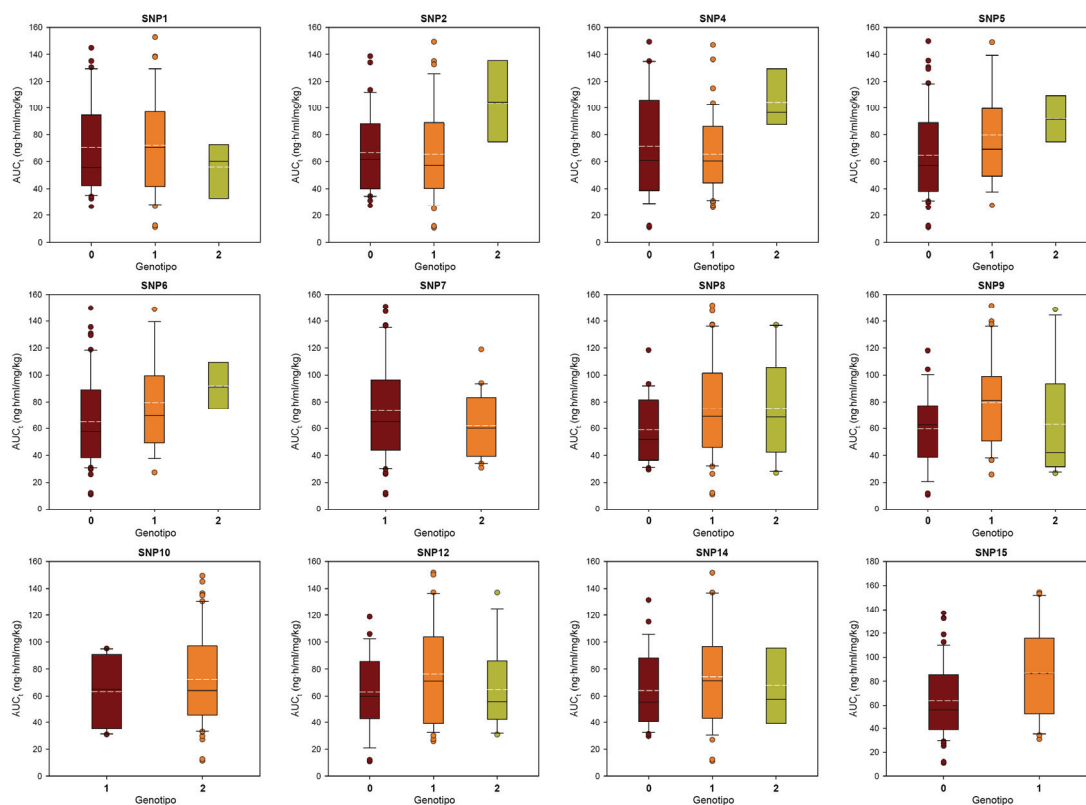


Figura A2.6. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en el AUC_t (ajustado por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal) de simvastatina (84-SIM) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=16$, “1” $n=17$, “2” $n=3$; *SNP2*: “0” $n=15$, “1” $n=17$, “2” $n=4$; *SNP4*: “0” $n=14$, “1” $n=20$, “2” $n=2$; *SNP5*: “0” $n=25$, “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP6*: “0” $n=25$, “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP7*: “0” $n=0$, “1” $n=26$, “2” $n=10$; *SNP8*: “0” $n=11$, “1” $n=20$, “2” $n=5$; *SNP9*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=5$, “2” $n=30$; *SNP12*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP14*: “0” $n=13$, “1” $n=19$, “2” $n=4$; *SNP15*: “0” $n=26$, “1” $n=10$, “2” $n=0$).

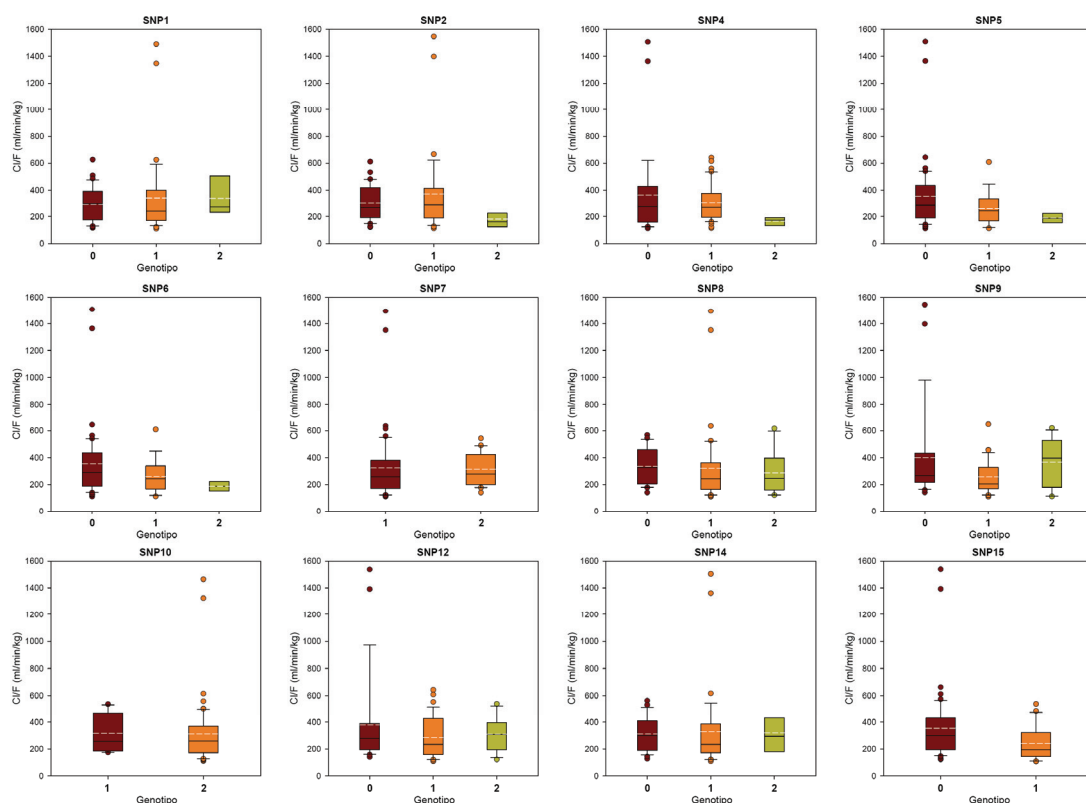


Figura A2.7. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en el Cl/F (ajustado por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal) de simvastatina (84-SIM) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=16$, “1” $n=17$, “2” $n=3$; *SNP2*: “0” $n=15$, “1” $n=17$, “2” $n=4$; *SNP4*: “0” $n=14$, “1” $n=20$, “2” $n=2$; *SNP5*: “0” $n=25$, “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP6*: “0” $n=25$, “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP7*: “0” $n=0$, “1” $n=26$, “2” $n=10$; *SNP8*: “0” $n=11$, “1” $n=20$, “2” $n=5$; *SNP9*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=5$, “2” $n=30$; *SNP12*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP14*: “0” $n=13$, “1” $n=19$, “2” $n=4$; *SNP15*: “0” $n=26$, “1” $n=10$, “2” $n=0$).

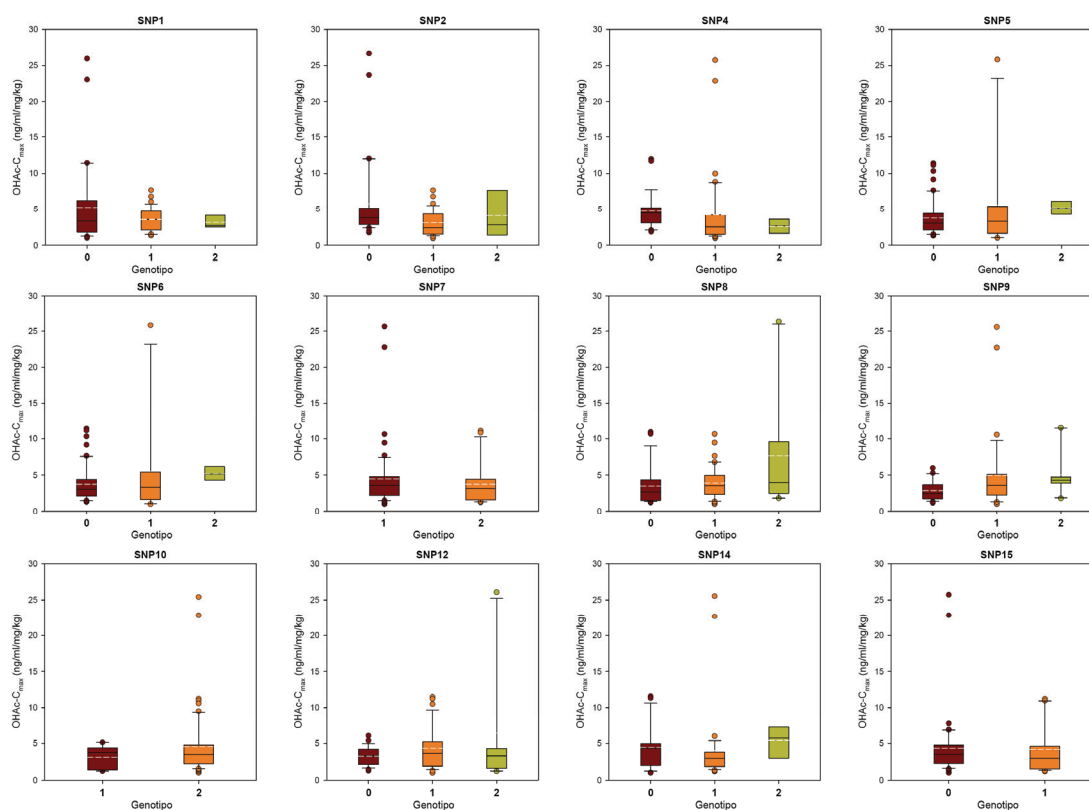


Figura A2.8. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en la C_{max} (ajustada por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal) del hidroxiaácido (OHAc) de simvastatina (84-SIM) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=16$, “1” $n=17$, “2” $n=3$; *SNP2*: “0” $n=15$, “1” $n=17$, “2” $n=4$; *SNP4*: “0” $n=14$, “1” $n=20$, “2” $n=2$; *SNP5*: “0” $n=25$, “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP6*: “0” $n=25$, “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP7*: “0” $n=0$, “1” $n=26$, “2” $n=10$; *SNP8*: “0” $n=11$, “1” $n=20$, “2” $n=5$; *SNP9*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=5$, “2” $n=30$; *SNP12*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP14*: “0” $n=13$, “1” $n=19$, “2” $n=4$; *SNP15*: “0” $n=26$, “1” $n=10$, “2” $n=0$).

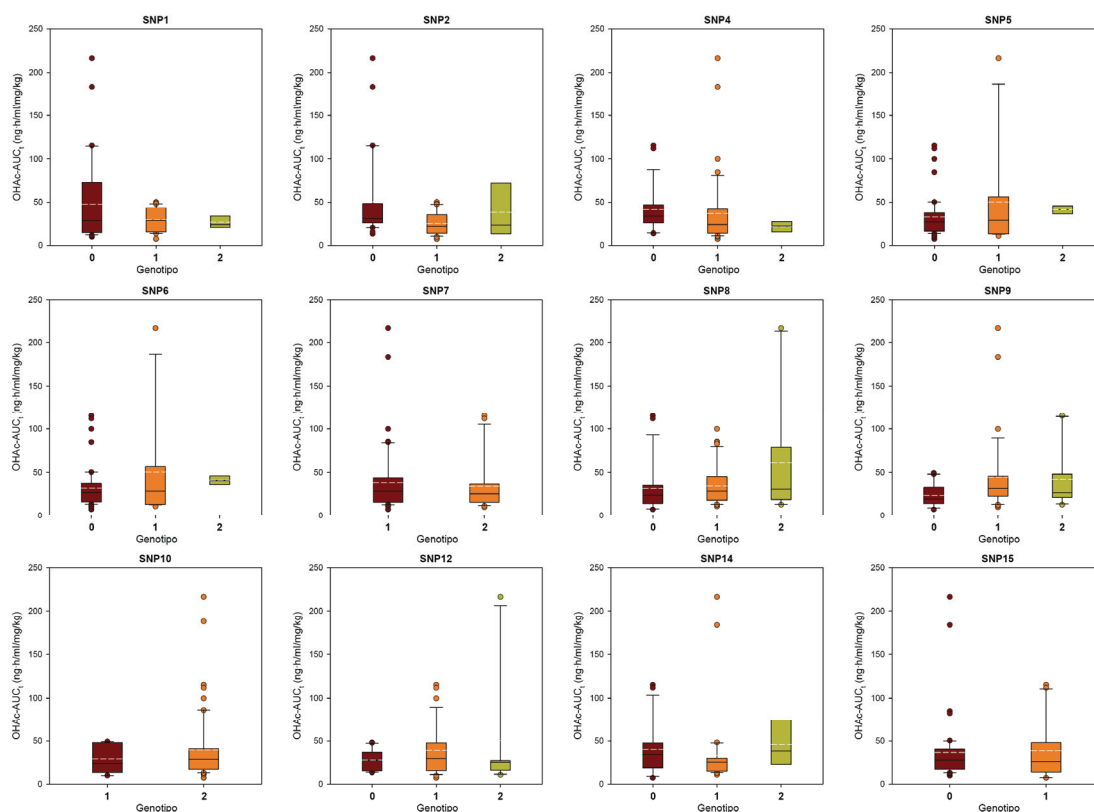


Figura A2.9. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en el AUC_t (ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal) del hidroxíácido (OHAc) de simvastatina (84-SIM) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=16$, “1” $n=17$, “2” $n=3$; *SNP2*: “0” $n=15$, “1” $n=17$, “2” $n=4$; *SNP4*: “0” $n=14$, “1” $n=20$, “2” $n=2$; *SNP5*: “0” $n=25$; “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP6*: “0” $n=25$; “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP7*: “0” $n=0$; “1” $n=26$, “2” $n=10$; *SNP8*: “0” $n=11$, “1” $n=20$, “2” $n=5$; *SNP9*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=5$, “2” $n=30$; *SNP12*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP14*: “0” $n=13$, “1” $n=19$, “2” $n=4$; *SNP15*: “0” $n=26$, “1” $n=10$, “2” $n=0$).

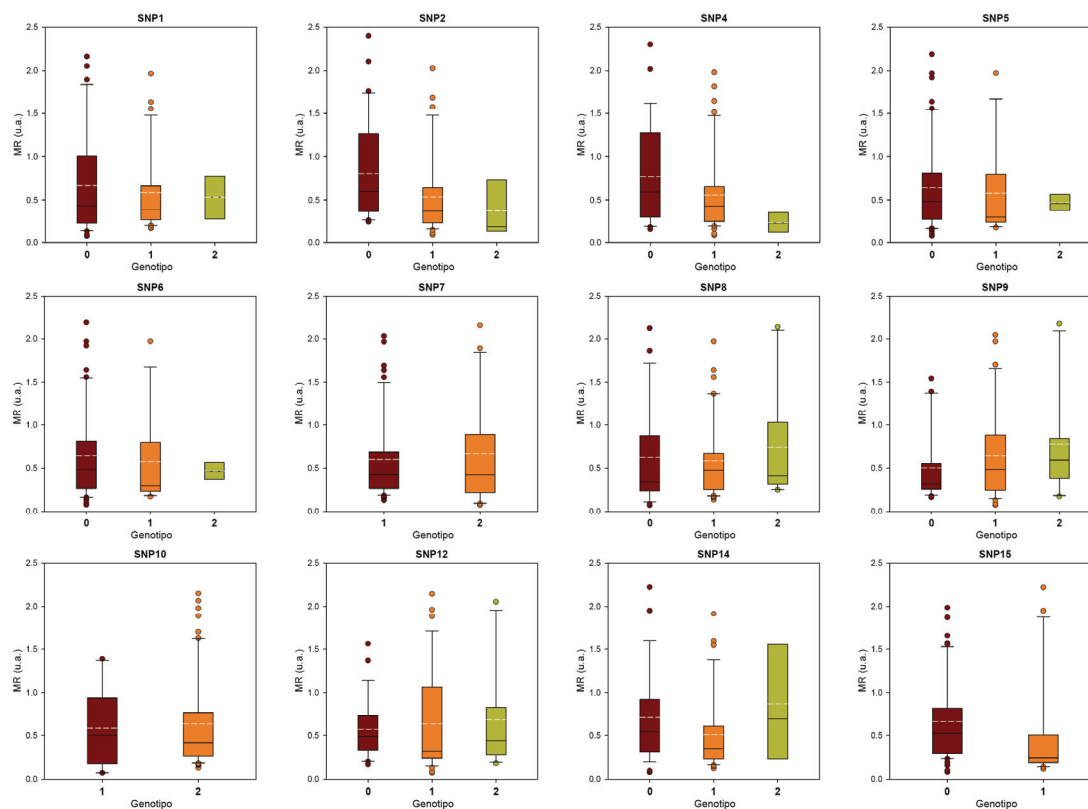


Figura A2.10. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en el MR (ajustado por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal) de simvastatina (84-SIM) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=16$, “1” $n=17$, “2” $n=3$; *SNP2*: “0” $n=15$, “1” $n=17$, “2” $n=4$; *SNP4*: “0” $n=14$, “1” $n=20$, “2” $n=2$; *SNP5*: “0” $n=25$, “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP6*: “0” $n=25$, “1” $n=9$, “2” $n=2$; *SNP7*: “0” $n=0$, “1” $n=26$, “2” $n=10$; *SNP8*: “0” $n=11$, “1” $n=20$, “2” $n=5$; *SNP9*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=5$, “2” $n=30$; *SNP12*: “0” $n=12$, “1” $n=18$, “2” $n=6$; *SNP14*: “0” $n=13$, “1” $n=19$, “2” $n=4$; *SNP15*: “0” $n=26$, “1” $n=10$, “2” $n=0$).

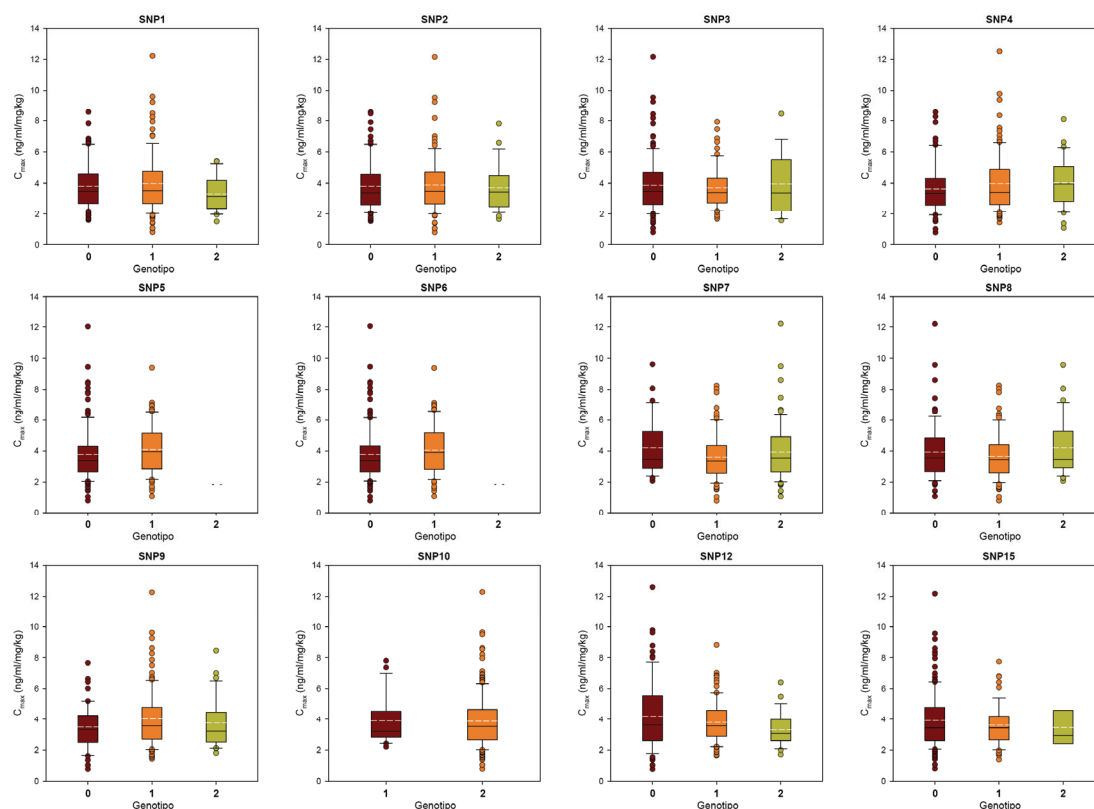


Figura A2.11. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en la C_{max} (ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal) de lovastatina (3-LOVs) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $nx2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=40$, “1” $n=49$, “2” $n=11$; *SNP2*: “0” $n=41$, “1” $n=44$, “2” $n=14$; *SNP3*: “0” $n=59$, “1” $n=31$, “2” $n=9$; *SNP4*: “0” $n=30$, “1” $n=51$, “2” $n=16$; *SNP5*: “0” $n=64$, “1” $n=35$, “2” $n=1$; *SNP6*: “0” $n=65$, “1” $n=34$, “2” $n=1$; *SNP7*: “0” $n=17$, “1” $n=43$, “2” $n=38$; *SNP8*: “0” $n=39$, “1” $n=44$, “2” $n=17$; *SNP9*: “0” $n=25$, “1” $n=56$, “2” $n=18$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=11$, “2” $n=88$; *SNP12*: “0” $n=38$, “1” $n=46$, “2” $n=14$; *SNP15*: “0” $n=65$, “1” $n=29$, “2” $n=4$).

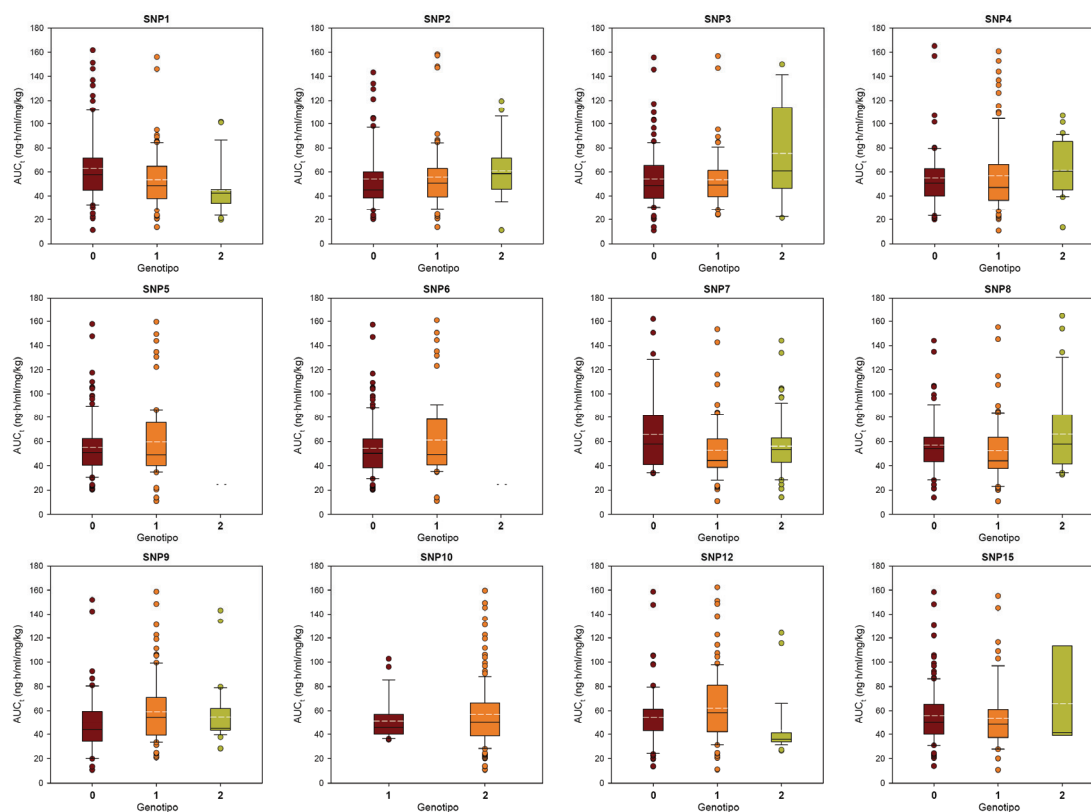


Figura A2.12. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en el AUC_t (ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal) de lovastatina (3-LOVs) predicho por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=40$, “1” $n=49$, “2” $n=11$; *SNP2*: “0” $n=41$, “1” $n=44$, “2” $n=14$; *SNP3*: “0” $n=59$, “1” $n=31$, “2” $n=9$; *SNP4*: “0” $n=30$, “1” $n=51$, “2” $n=16$; *SNP5*: “0” $n=64$, “1” $n=35$, “2” $n=1$; *SNP6*: “0” $n=65$, “1” $n=34$, “2” $n=1$; *SNP7*: “0” $n=17$, “1” $n=43$, “2” $n=38$; *SNP8*: “0” $n=39$, “1” $n=44$, “2” $n=17$; *SNP9*: “0” $n=25$, “1” $n=56$, “2” $n=18$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=11$, “2” $n=88$; *SNP12*: “0” $n=38$, “1” $n=46$, “2” $n=14$; *SNP15*: “0” $n=65$, “1” $n=29$, “2” $n=4$).

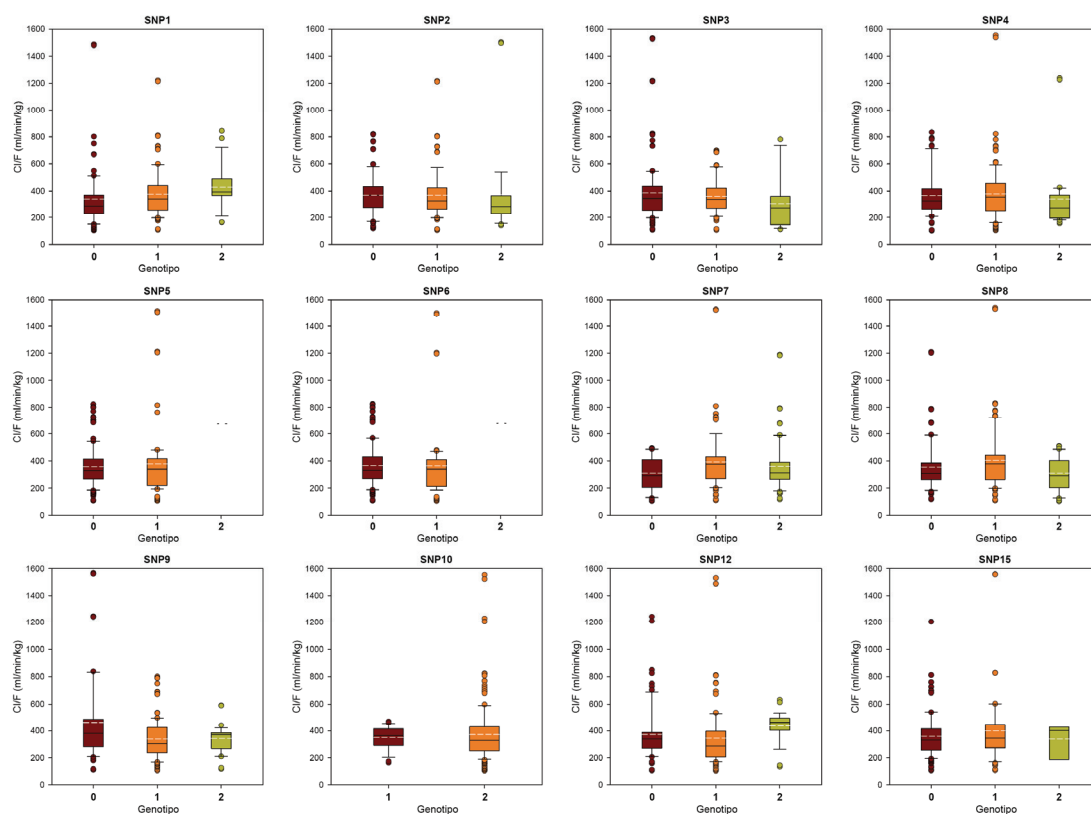


Figura A2.13. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en el Cl/F (ajustado por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal) de lovastatina (3-LOVs) predicho por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=40$, “1” $n=49$, “2” $n=11$; *SNP2*: “0” $n=41$, “1” $n=44$, “2” $n=14$; *SNP3*: “0” $n=59$, “1” $n=31$, “2” $n=9$; *SNP4*: “0” $n=30$, “1” $n=51$, “2” $n=16$; *SNP5*: “0” $n=64$, “1” $n=35$, “2” $n=1$; *SNP6*: “0” $n=65$, “1” $n=34$, “2” $n=1$; *SNP7*: “0” $n=17$, “1” $n=43$, “2” $n=38$; *SNP8*: “0” $n=39$, “1” $n=44$, “2” $n=17$; *SNP9*: “0” $n=25$, “1” $n=56$, “2” $n=18$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=11$, “2” $n=88$; *SNP12*: “0” $n=38$, “1” $n=46$, “2” $n=14$; *SNP15*: “0” $n=65$, “1” $n=29$, “2” $n=4$).

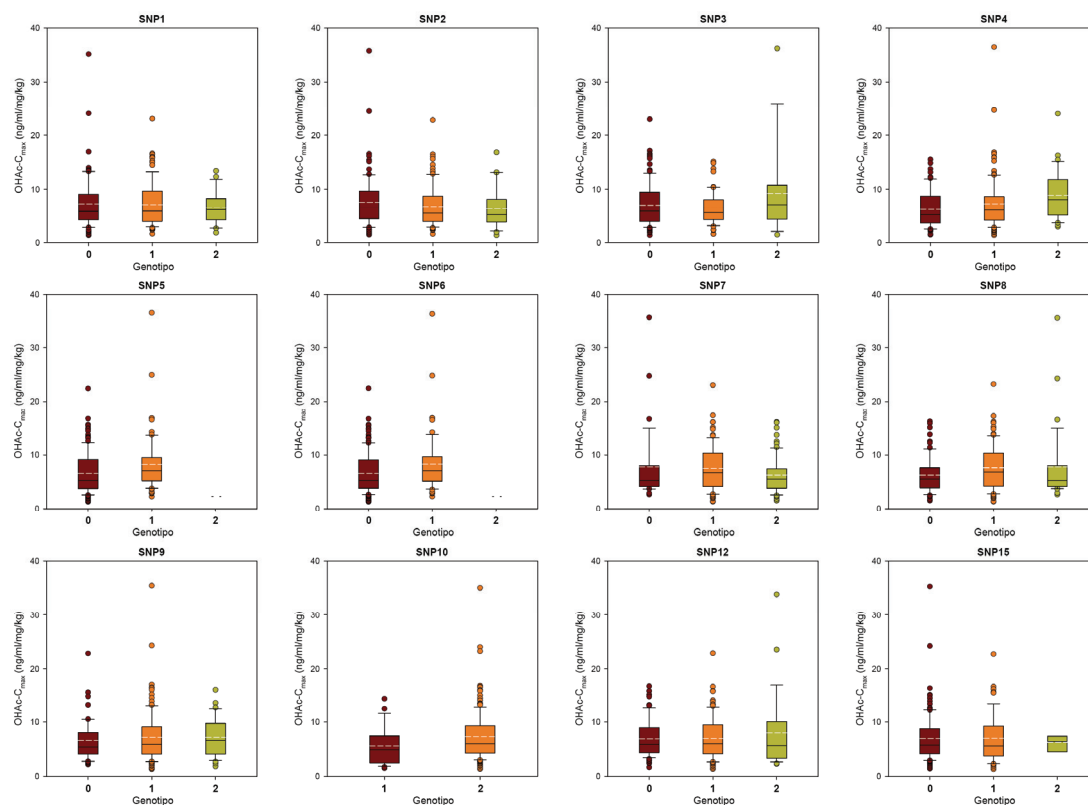


Figura A2.14. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en la C_{\max} (ajustada por mg de dosis recibida por kg de peso corporal) del hidroxíácido (OHAc) de lovastatina (3-LOVs) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: "0" $n=40$, "1" $n=49$, "2" $n=11$; *SNP2*: "0" $n=41$, "1" $n=44$, "2" $n=14$; *SNP3*: "0" $n=59$, "1" $n=31$, "2" $n=9$; *SNP4*: "0" $n=30$, "1" $n=51$, "2" $n=16$; *SNP5*: "0" $n=64$, "1" $n=35$, "2" $n=1$; *SNP6*: "0" $n=65$, "1" $n=34$, "2" $n=1$; *SNP7*: "0" $n=17$, "1" $n=43$, "2" $n=38$; *SNP8*: "0" $n=39$, "1" $n=44$, "2" $n=17$; *SNP9*: "0" $n=25$, "1" $n=56$, "2" $n=18$; *SNP10*: "0" $n=0$, "1" $n=11$, "2" $n=88$; *SNP12*: "0" $n=38$, "1" $n=46$, "2" $n=14$; *SNP15*: "0" $n=65$, "1" $n=29$, "2" $n=4$).

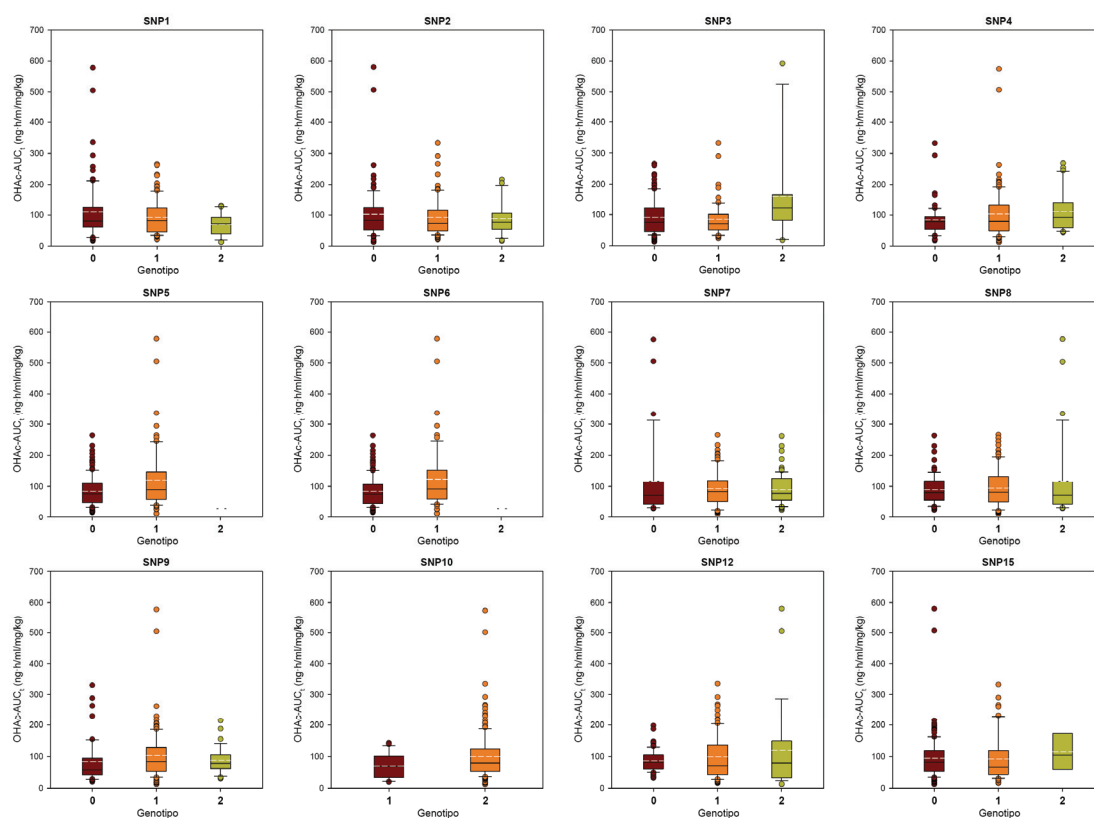


Figura A2.15. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en el AUC_t (ajustado por mg de dosis recibida por kg de peso corporal) del hidroxíácido (OHAc) de lovastatina (3-LOVs) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=40$, “1” $n=49$, “2” $n=11$; *SNP2*: “0” $n=41$, “1” $n=44$, “2” $n=14$; *SNP3*: “0” $n=59$, “1” $n=31$, “2” $n=9$; *SNP4*: “0” $n=30$, “1” $n=51$, “2” $n=16$; *SNP5*: “0” $n=64$, “1” $n=35$, “2” $n=1$; *SNP6*: “0” $n=65$, “1” $n=34$, “2” $n=1$; *SNP7*: “0” $n=17$, “1” $n=43$, “2” $n=38$; *SNP8*: “0” $n=39$, “1” $n=44$, “2” $n=17$; *SNP9*: “0” $n=25$, “1” $n=56$, “2” $n=18$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=11$, “2” $n=88$; *SNP12*: “0” $n=38$, “1” $n=46$, “2” $n=14$; *SNP15*: “0” $n=65$, “1” $n=29$, “2” $n=4$).

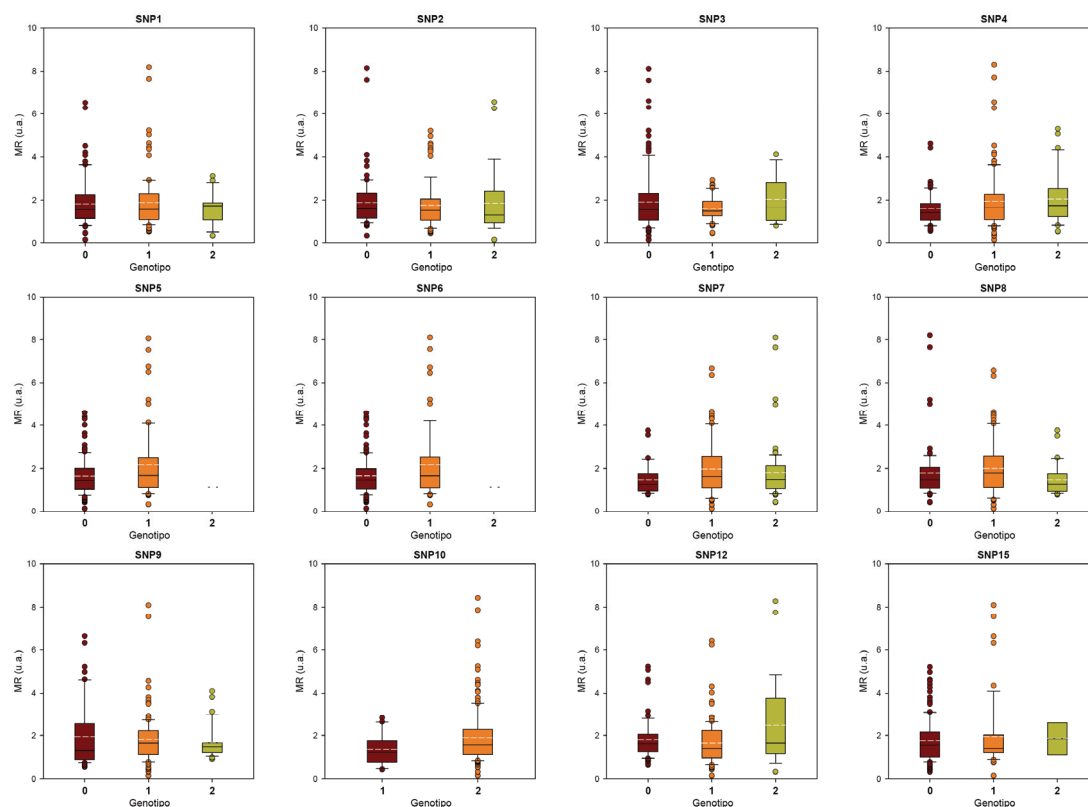


Figura A2.16. Diagramas de caja de los 12 SNPs sin diferencias estadísticamente significativas entre sus genotipos en el MR (ajustado por *mg* de dosis recibida por *kg* de peso corporal) de lovastatina (3-LOVs) predicha por el modelo 3.

(dentro de las cajas las líneas blancas (discontinuas) y negras (continuas) representan la media y la mediana, respectivamente; el número de valores analizados fue de $n \times 2$ al incluir los de cada voluntario correspondientes a ambas formulaciones; el número de individuos portadores de los distintos genotipos de los correspondientes polimorfismos fueron: *SNP1*: “0” $n=40$, “1” $n=49$, “2” $n=11$; *SNP2*: “0” $n=41$, “1” $n=44$, “2” $n=14$; *SNP3*: “0” $n=59$, “1” $n=31$, “2” $n=9$; *SNP4*: “0” $n=30$, “1” $n=51$, “2” $n=16$; *SNP5*: “0” $n=64$, “1” $n=35$, “2” $n=1$; *SNP6*: “0” $n=65$, “1” $n=34$, “2” $n=1$; *SNP7*: “0” $n=17$, “1” $n=43$, “2” $n=38$; *SNP8*: “0” $n=39$, “1” $n=44$, “2” $n=17$; *SNP9*: “0” $n=25$, “1” $n=56$, “2” $n=18$; *SNP10*: “0” $n=0$, “1” $n=11$, “2” $n=88$; *SNP12*: “0” $n=38$, “1” $n=46$, “2” $n=14$; *SNP15*: “0” $n=65$, “1” $n=29$, “2” $n=4$).

A2.4.- Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina (3-LOVs).

SNP14 = 0, SNP13 = 0, SNP12 = 0

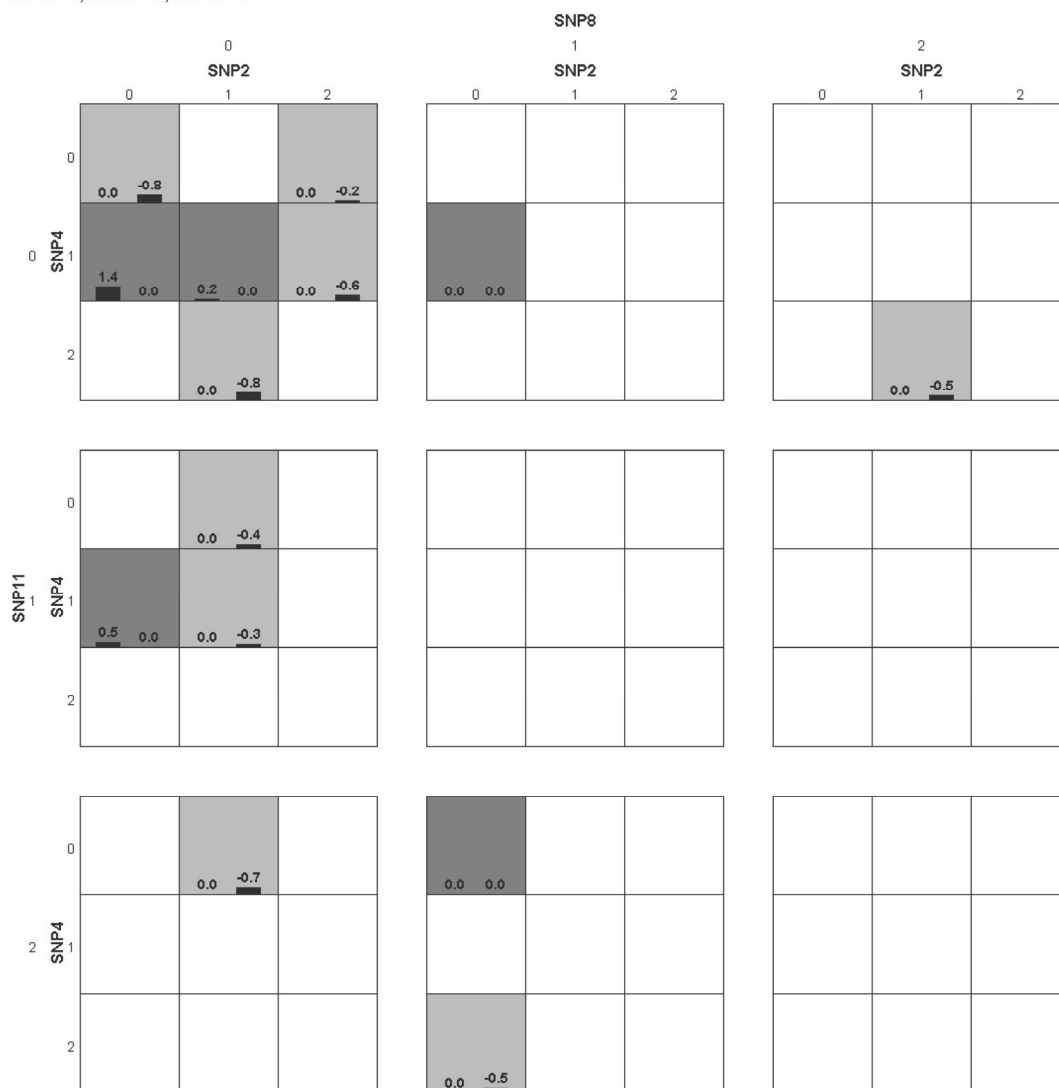


Figura A2.17. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 0, SNP13 = 0, SNP12 = 1

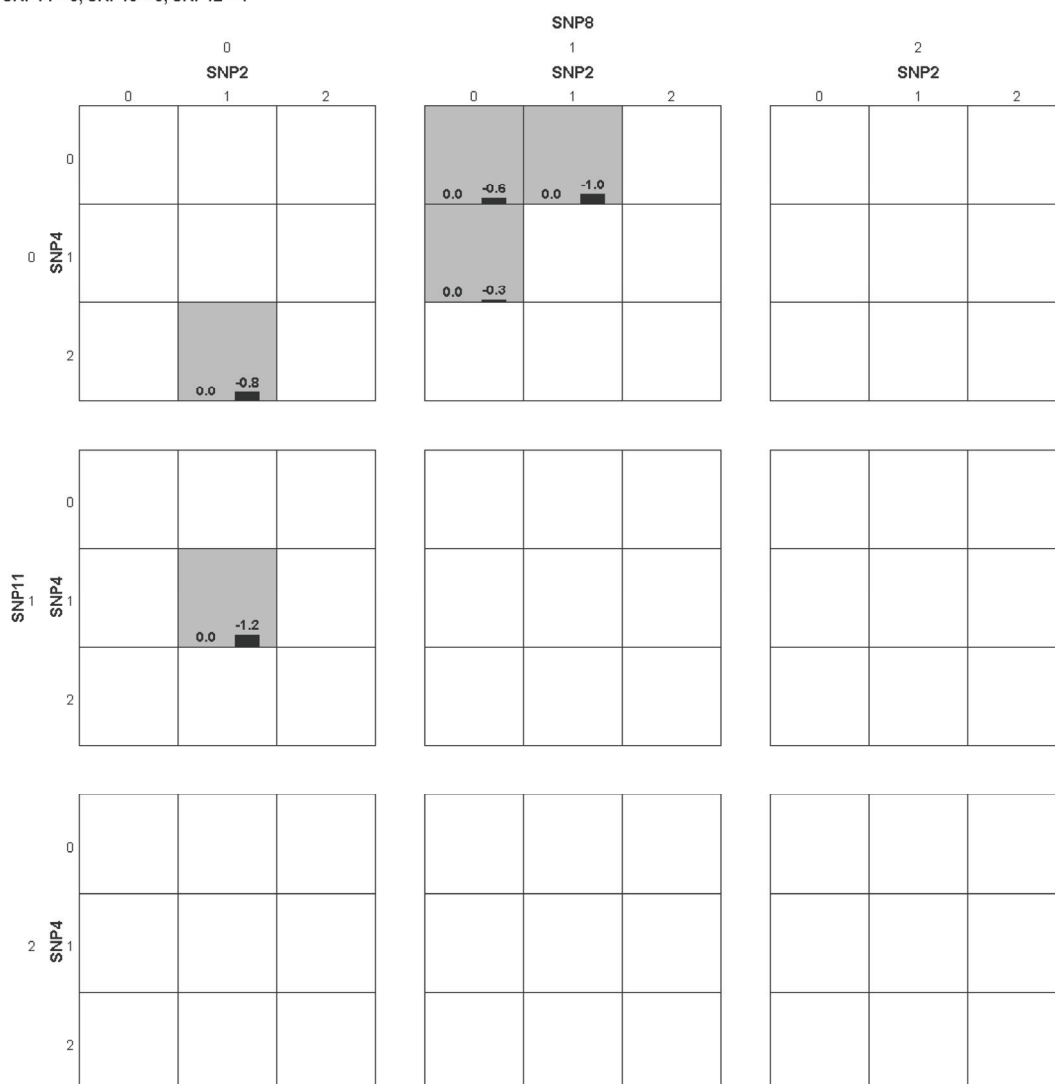


Figura A2.18. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 0, SNP13 = 0, SNP12 = 2

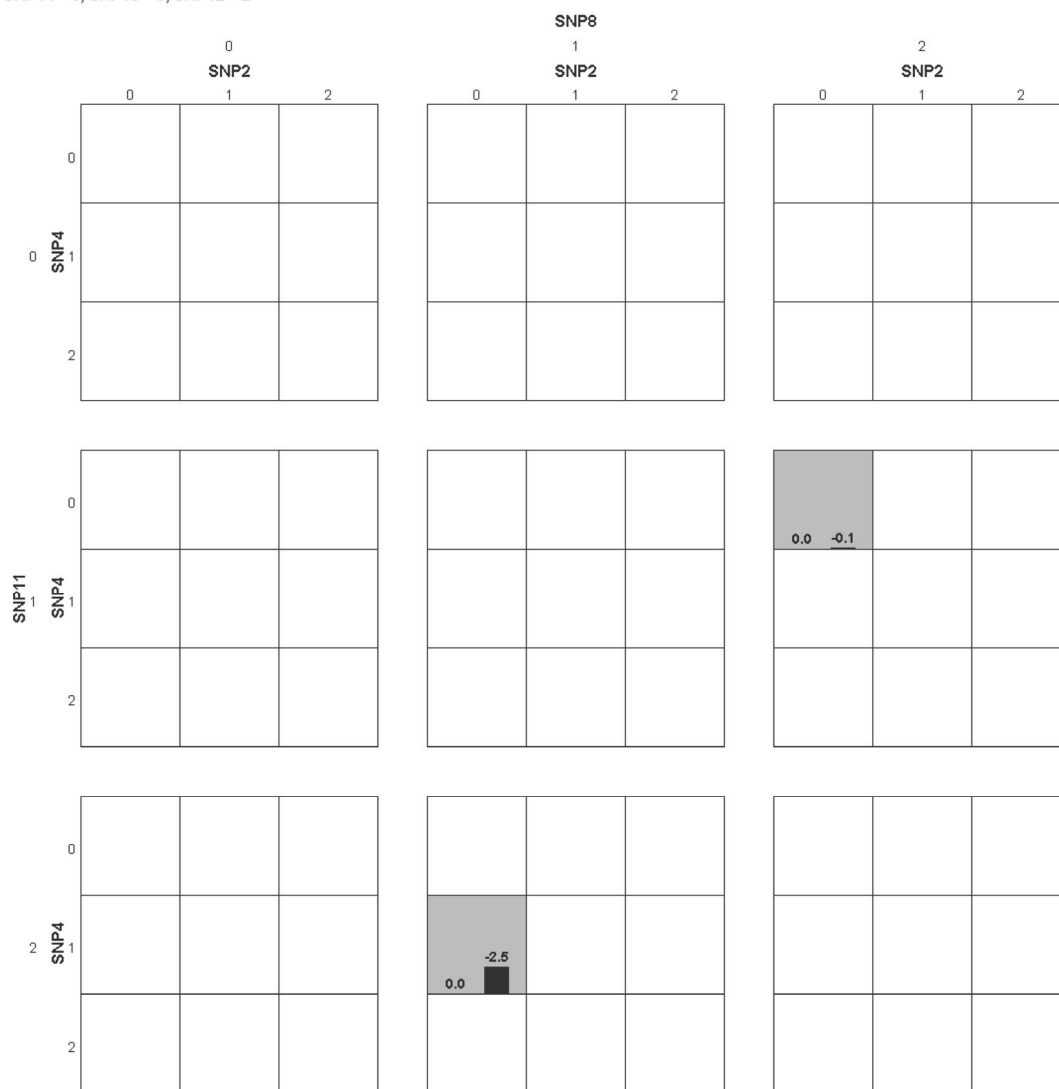


Figura A2.19. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 0, SNP13 = 1, SNP12 = 0

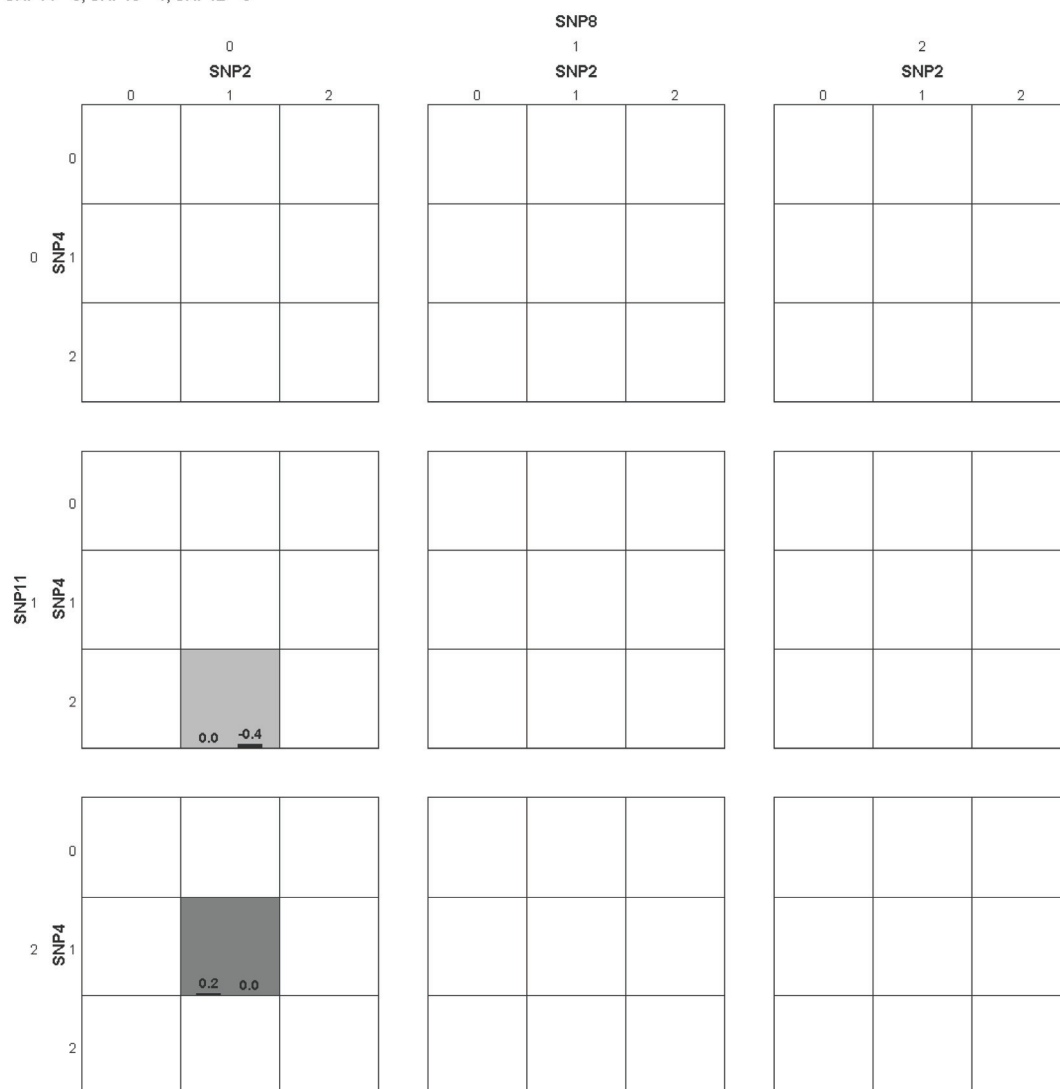


Figura A2.20. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 0, SNP13 = 1, SNP12 = 1

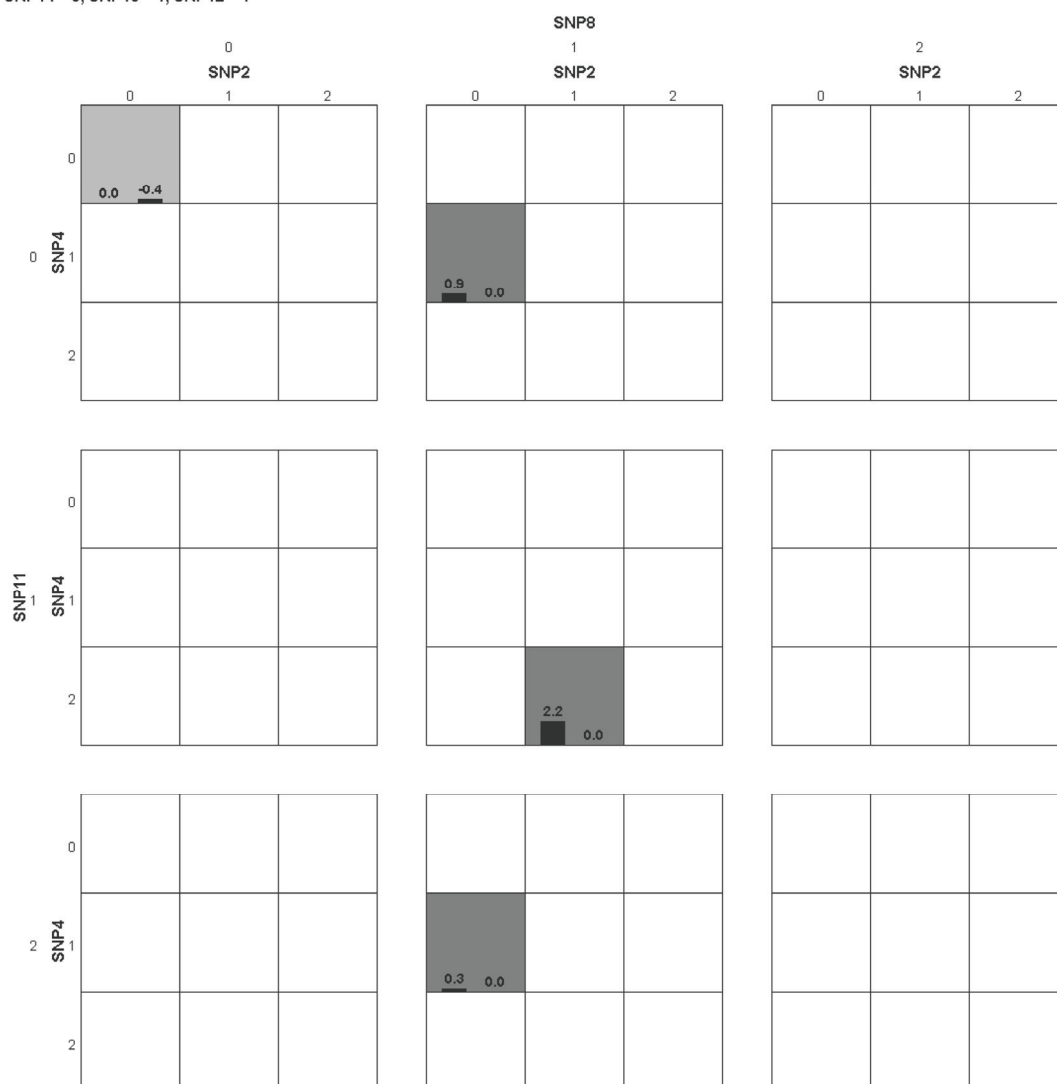


Figura A2.21. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 0, SNP13 = 1, SNP12 = 2

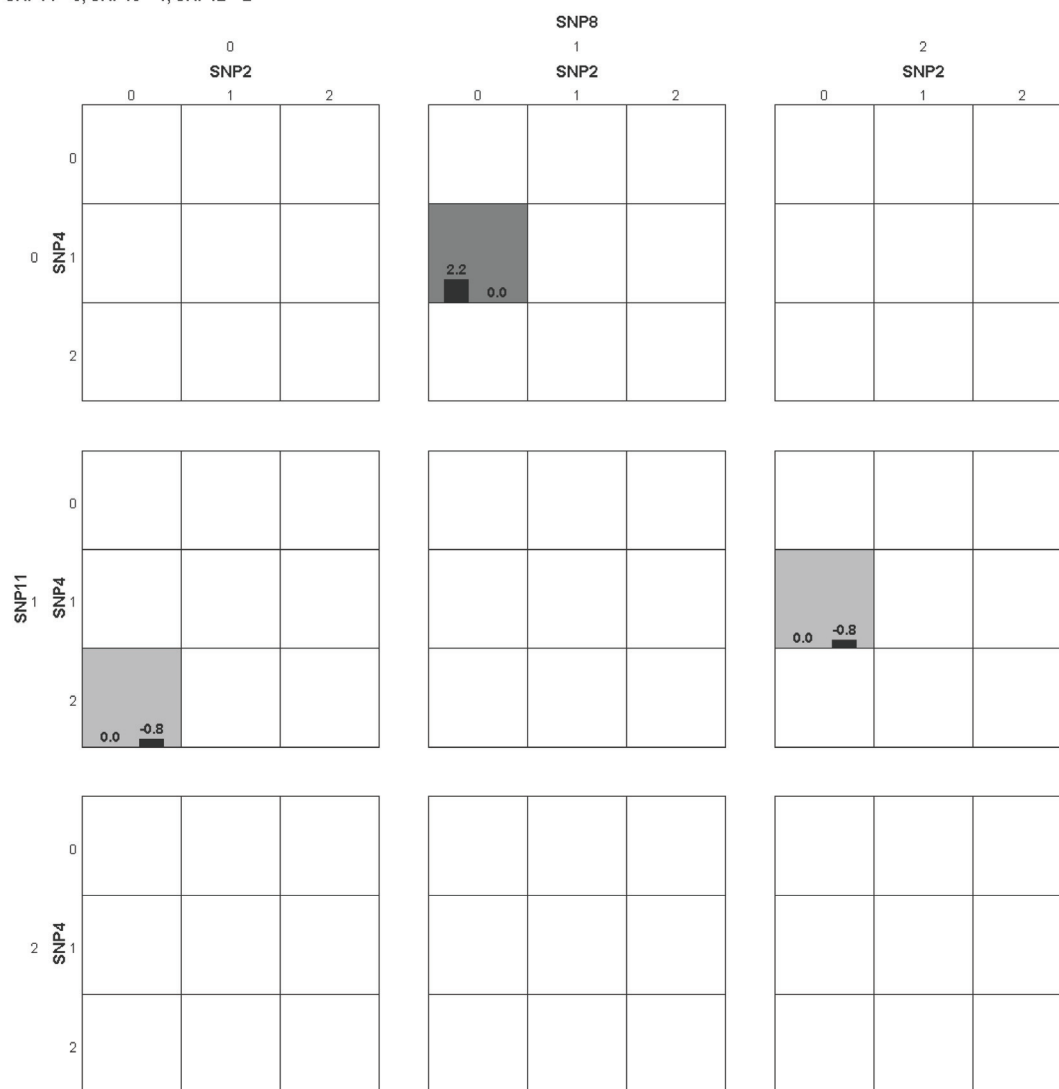


Figura A2.22. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 0, SNP13 = 2, SNP12 = 0

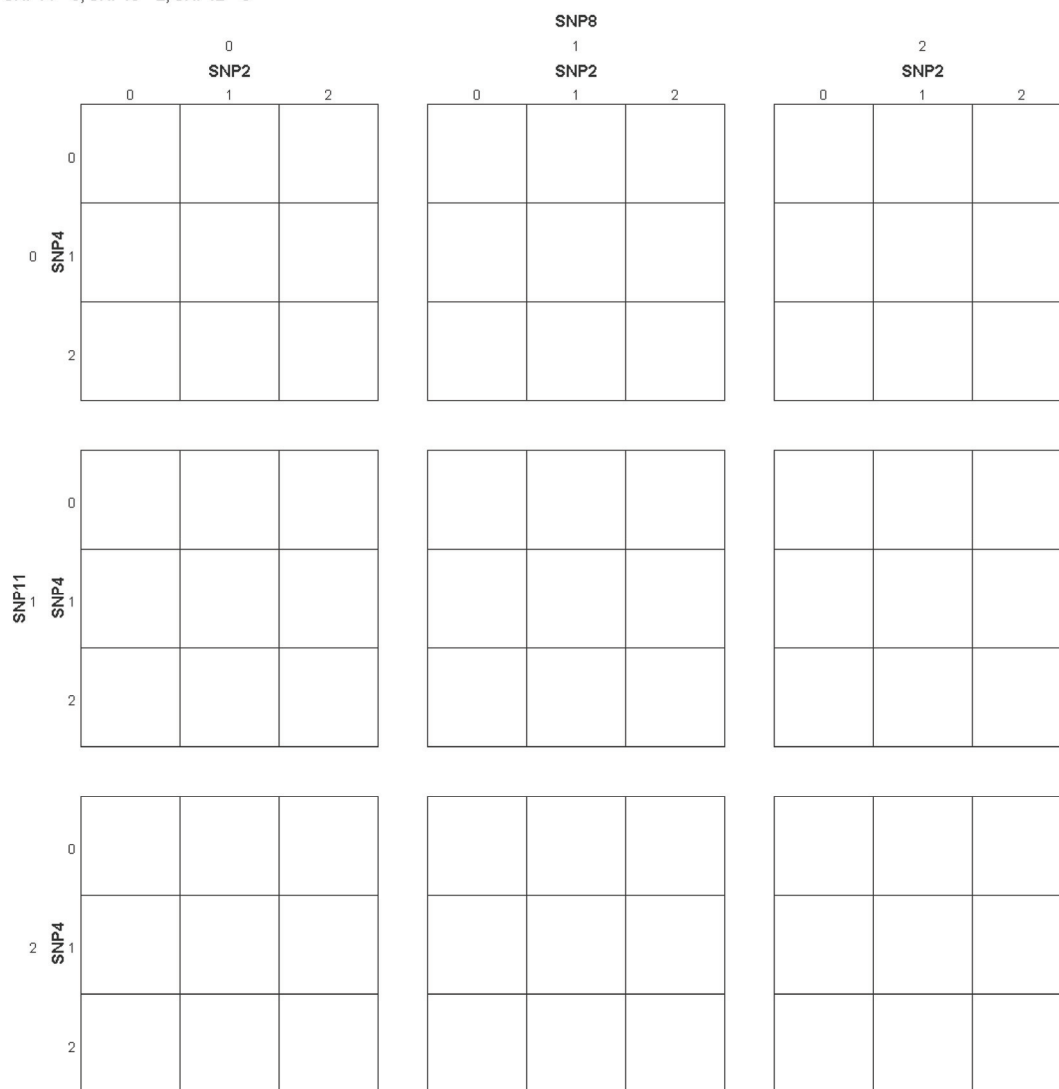


Figura A2.23. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 0, SNP13 = 2, SNP12 = 1

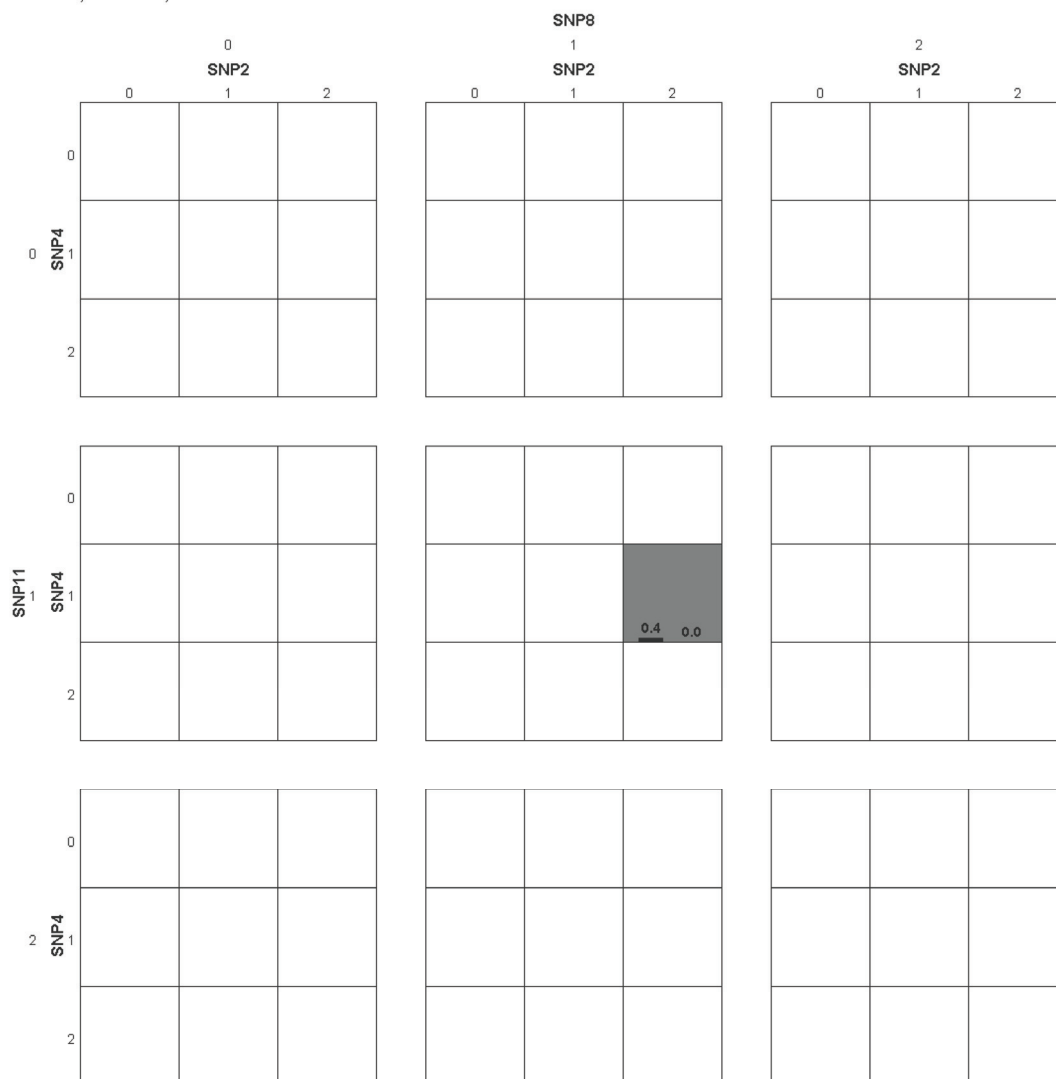


Figura A2.24. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 0, SNP13 = 2, SNP12 = 2

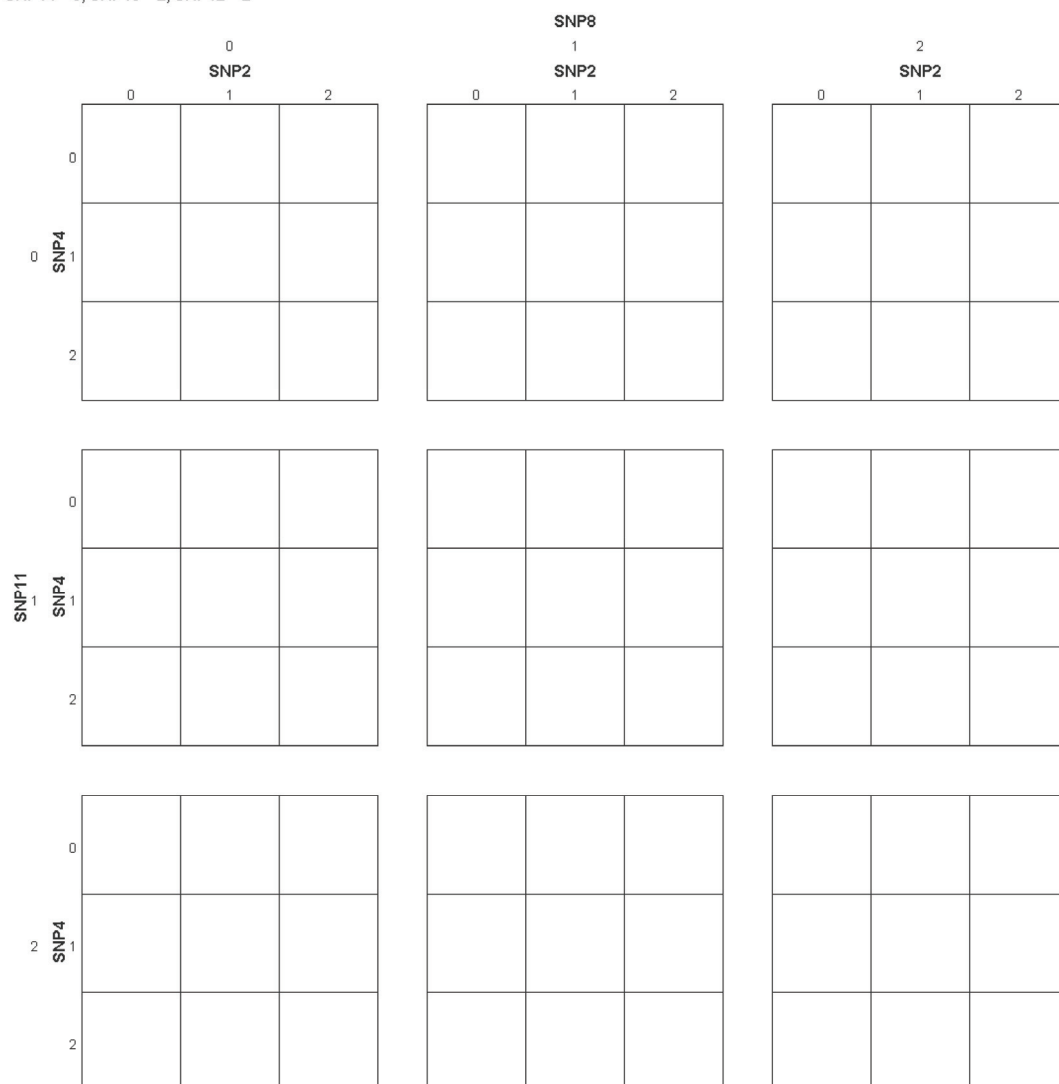


Figura A2.25. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 1, SNP13 = 0, SNP12 = 0

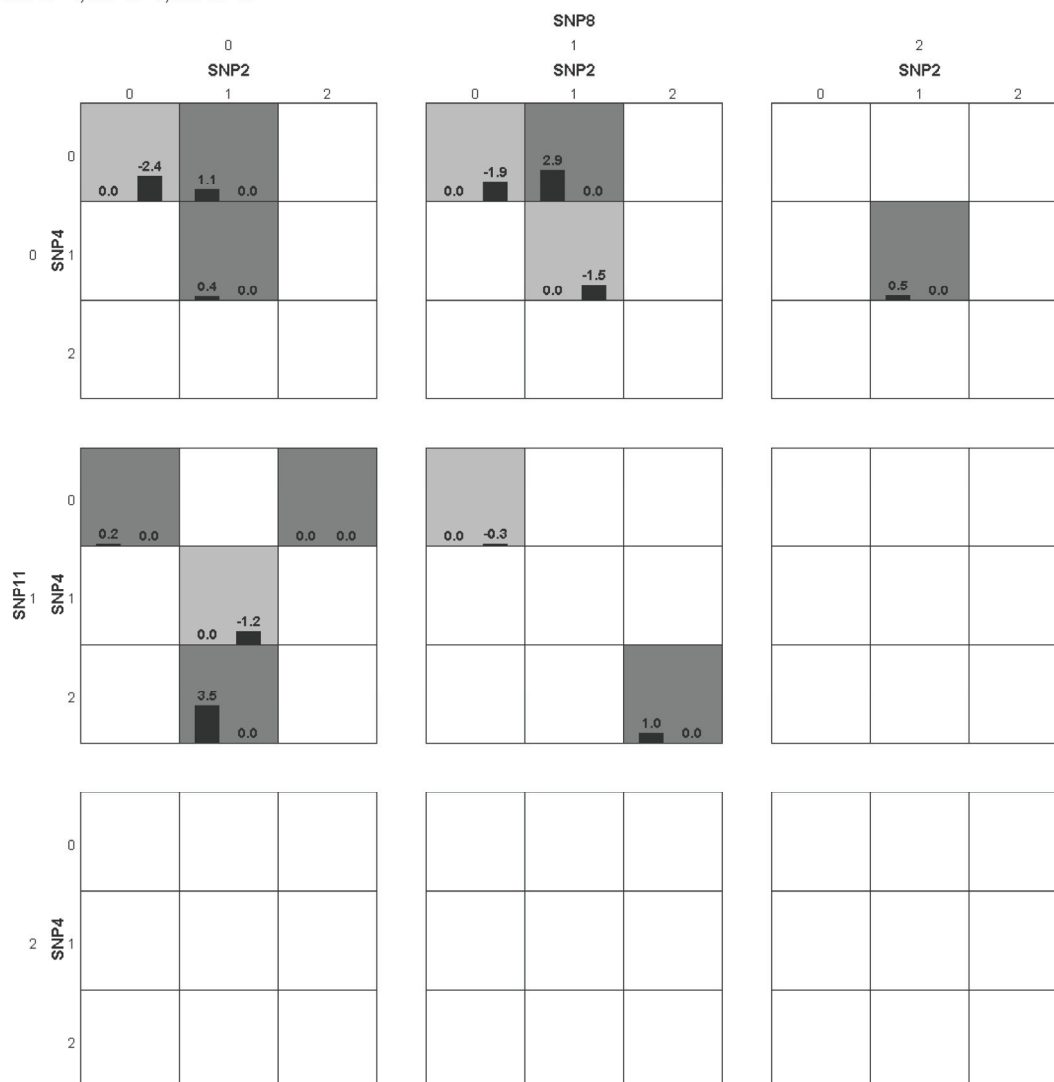


Figura A2.26. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 1, SNP13 = 0, SNP12 = 1

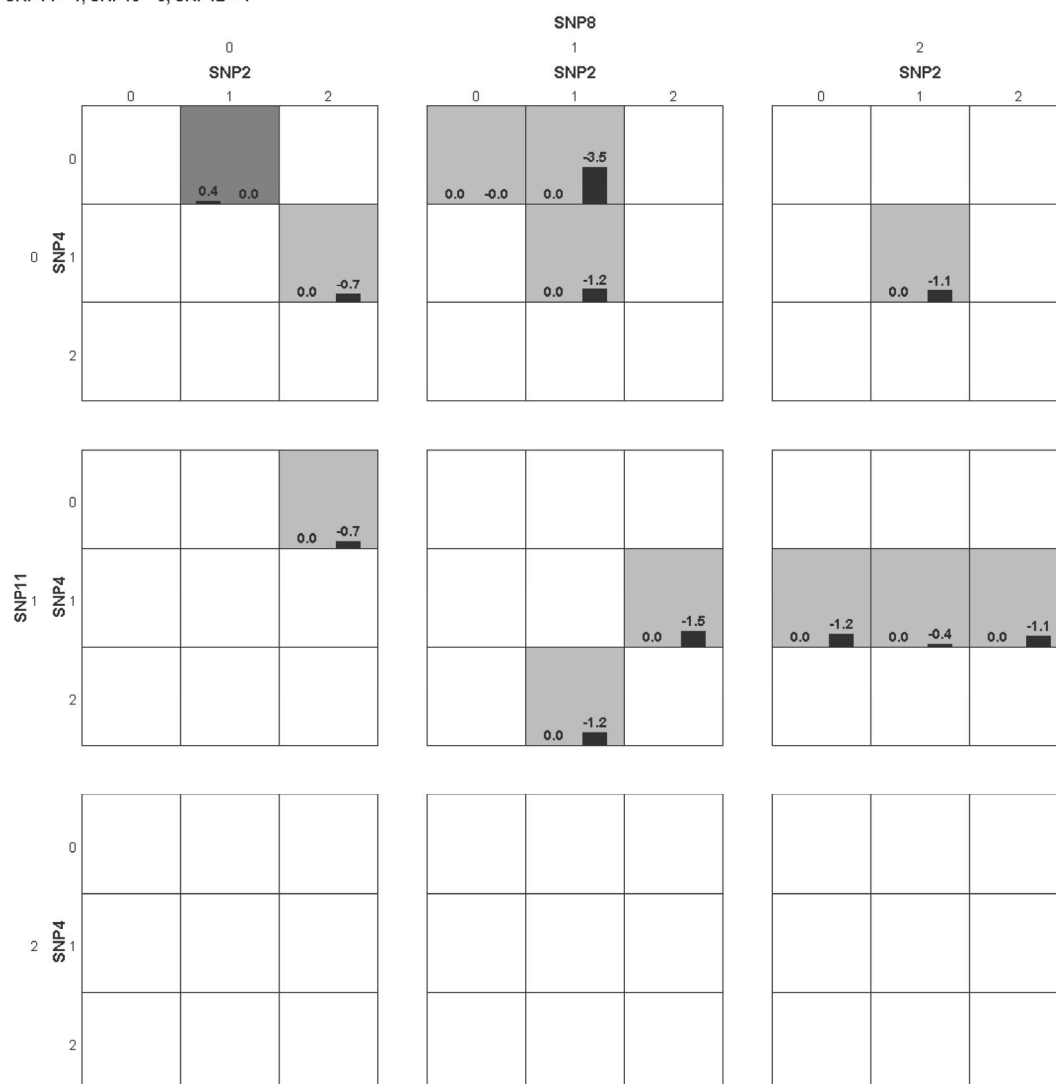


Figura A2.27. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 1, SNP13 = 0, SNP12 = 2

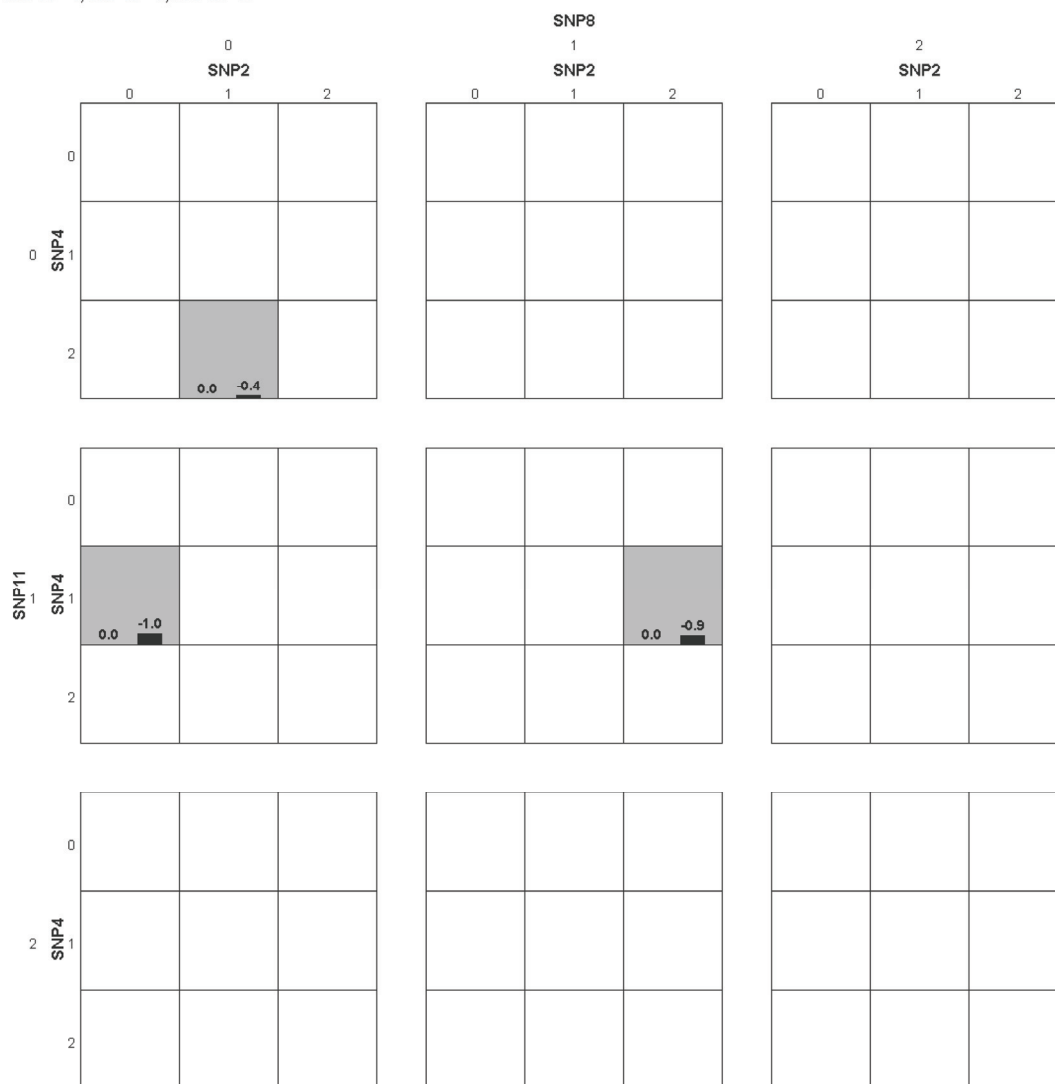


Figura A2.28. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 1, SNP13 = 1, SNP12 = 0

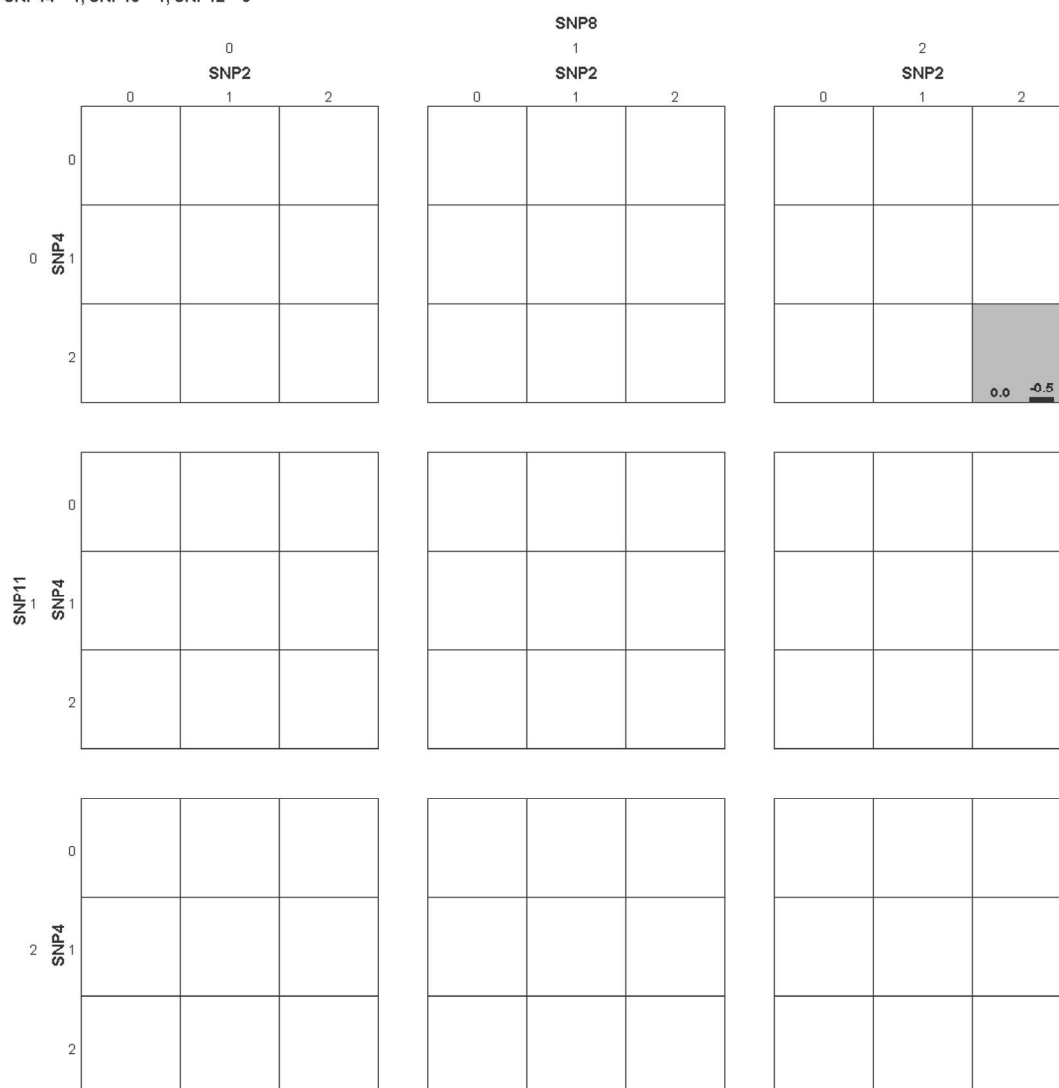


Figura A2.29. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 1, SNP13 = 1, SNP12 = 1

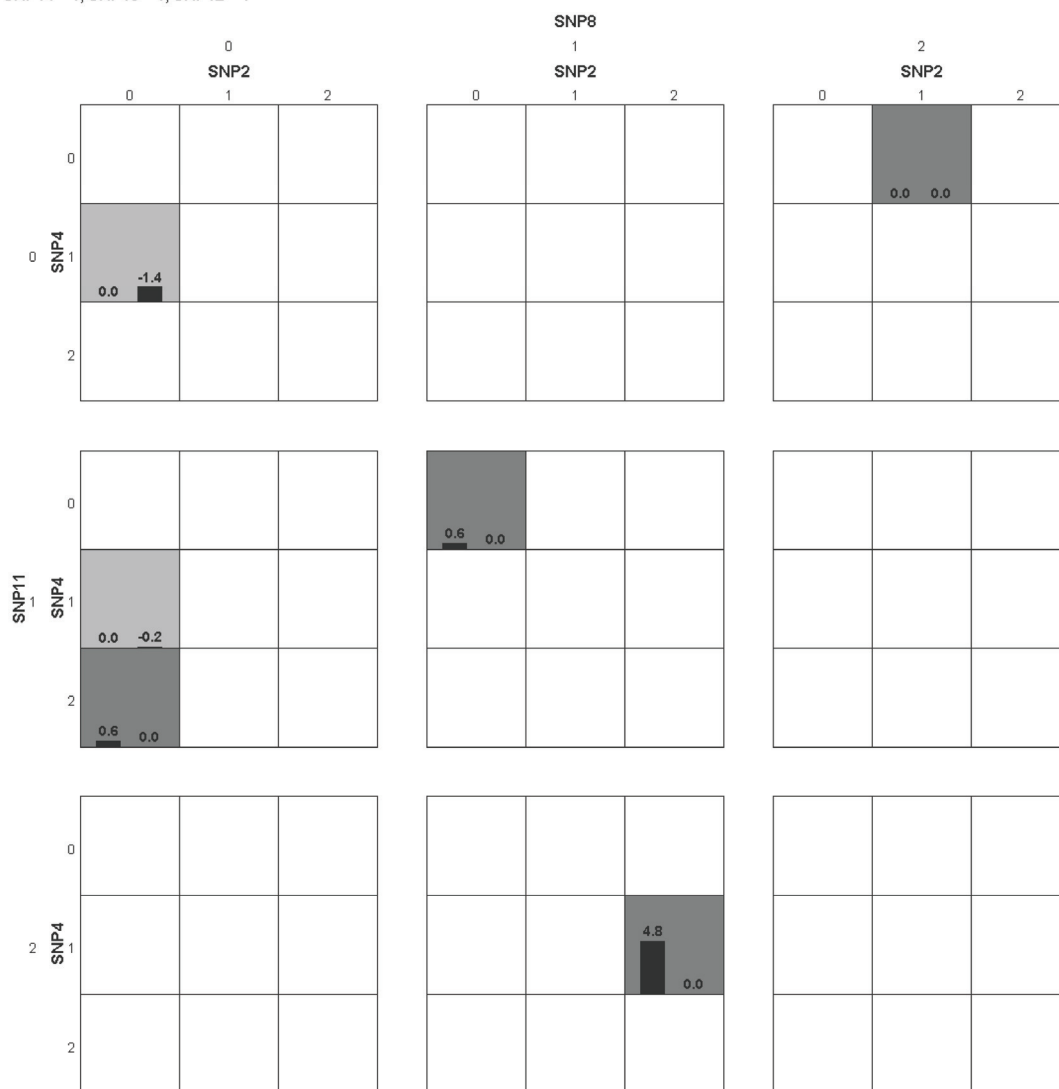


Figura A2.30. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 1, SNP13 = 1, SNP12 = 2

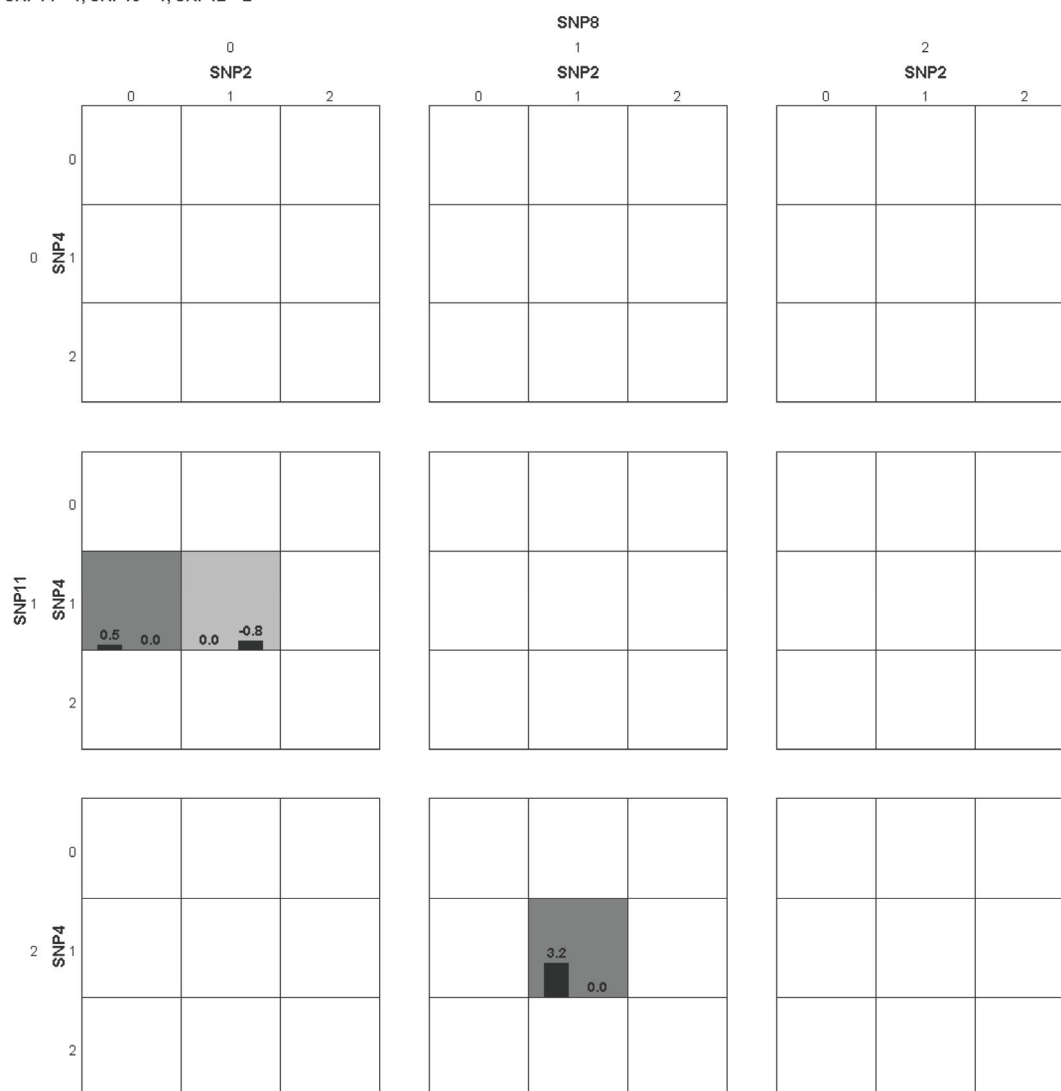


Figura A2.31. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 1, SNP13 = 2, SNP12 = 0

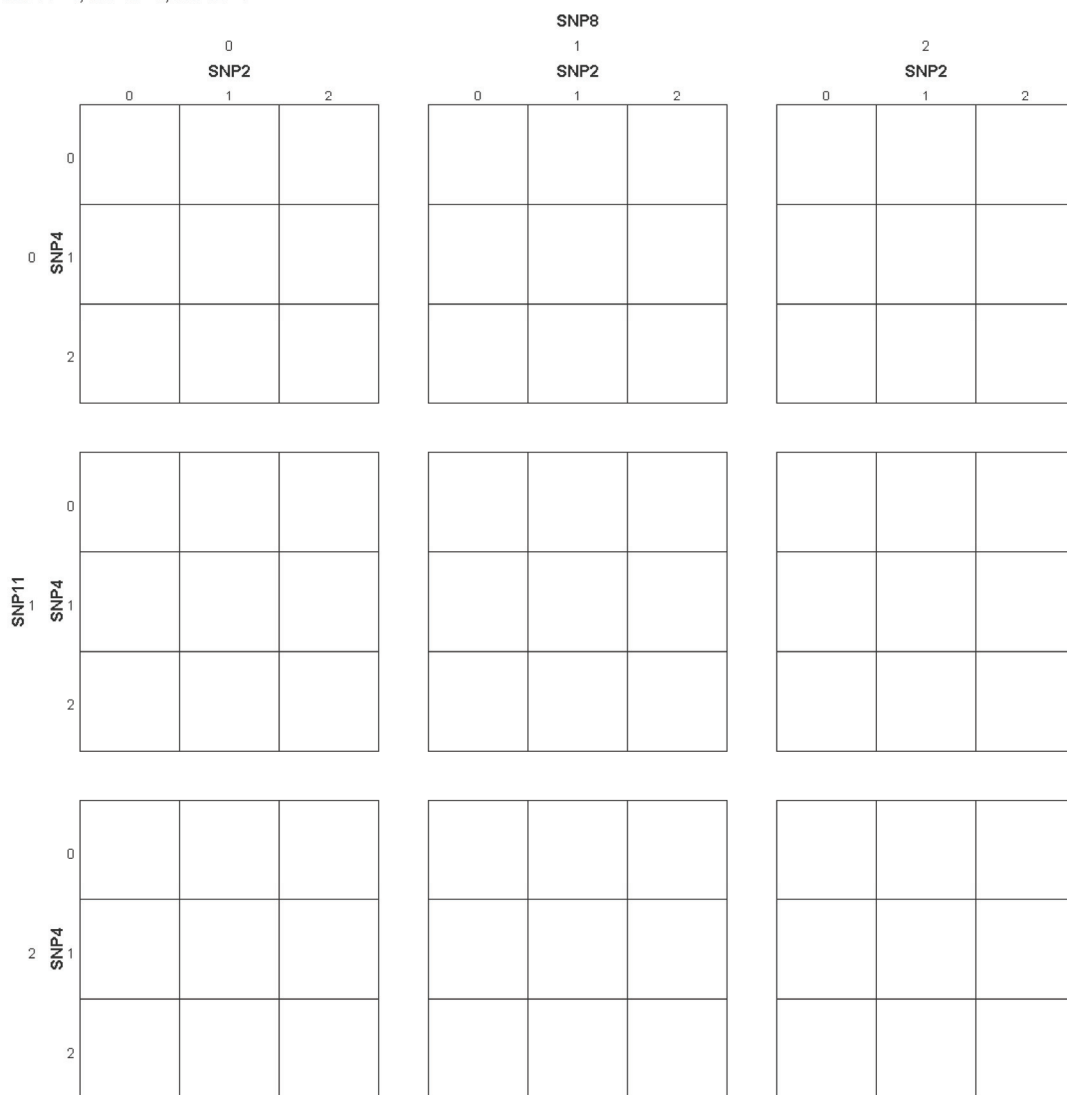


Figura A2.32. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 1, SNP13 = 2, SNP12 = 1

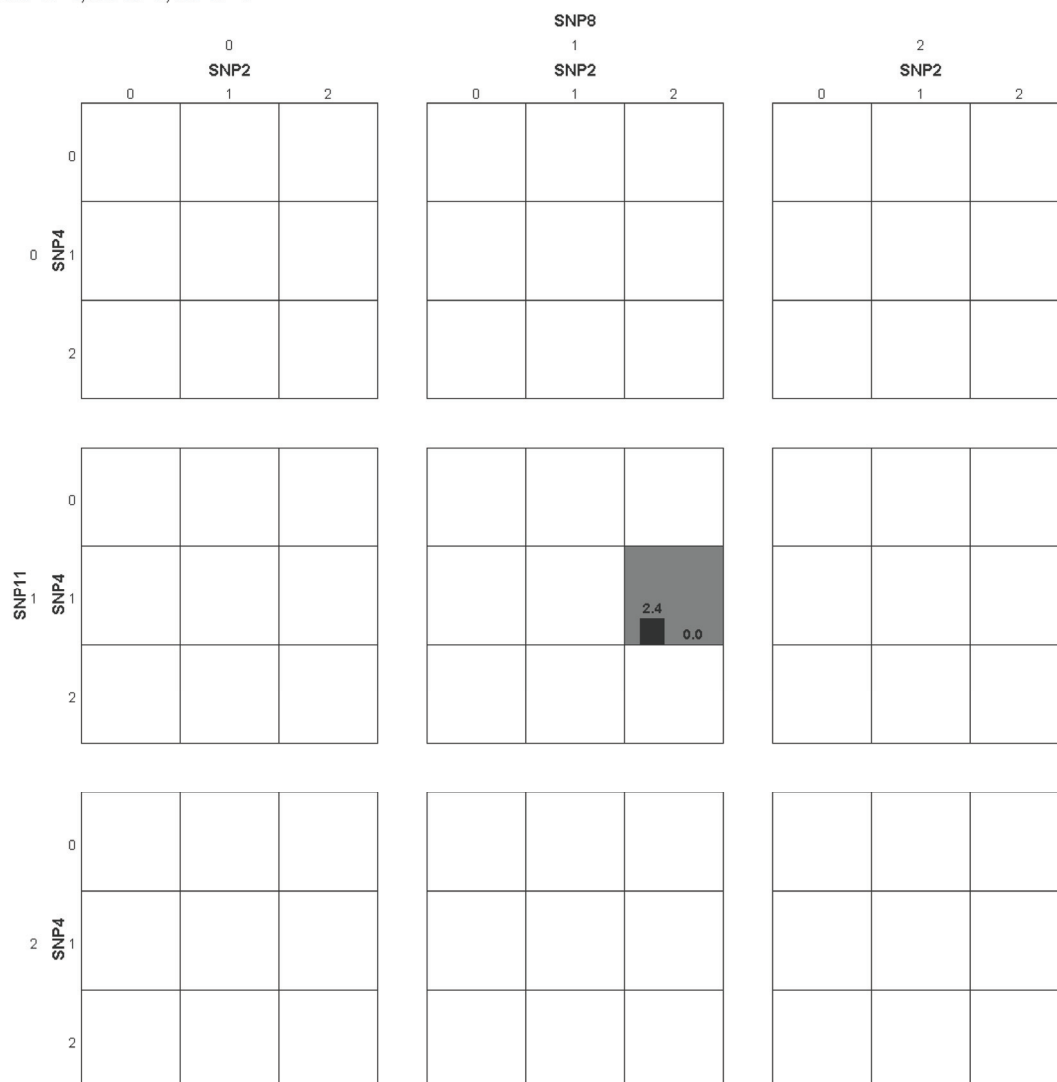


Figura A2.33. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 1, SNP13 = 2, SNP12 = 2

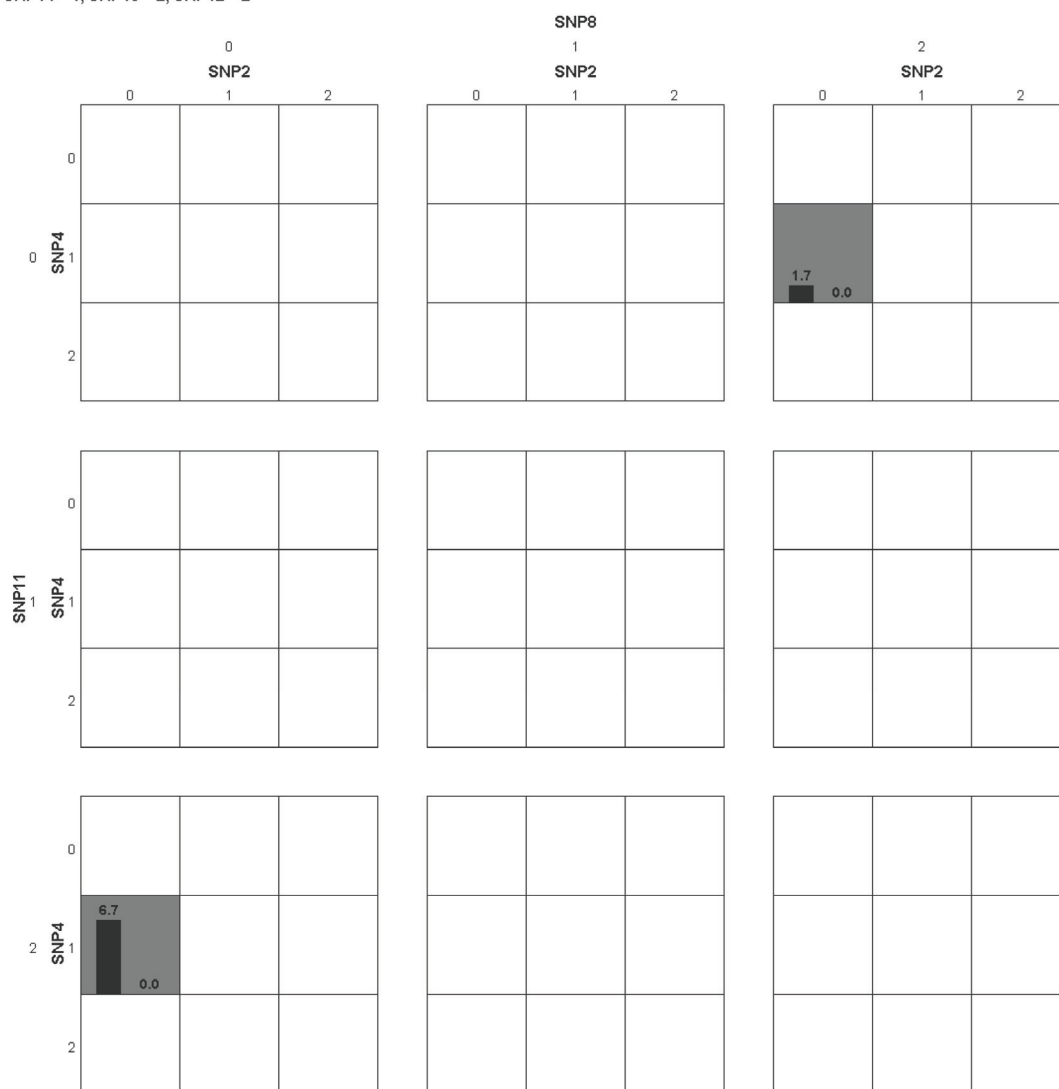


Figura A2.34. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 2, SNP13 = 0, SNP12 = 0

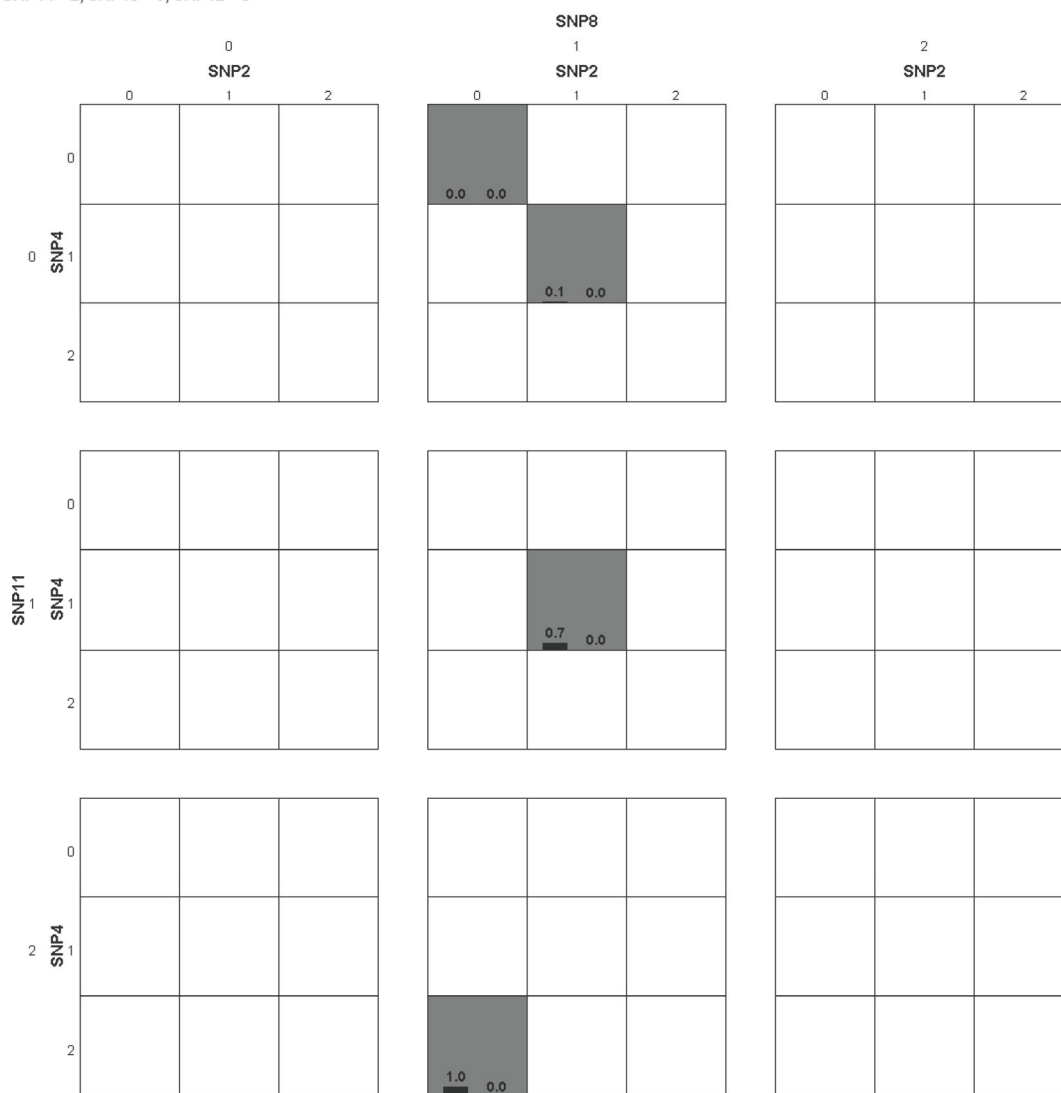


Figura A2.35. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 2, SNP13 = 0, SNP12 = 1

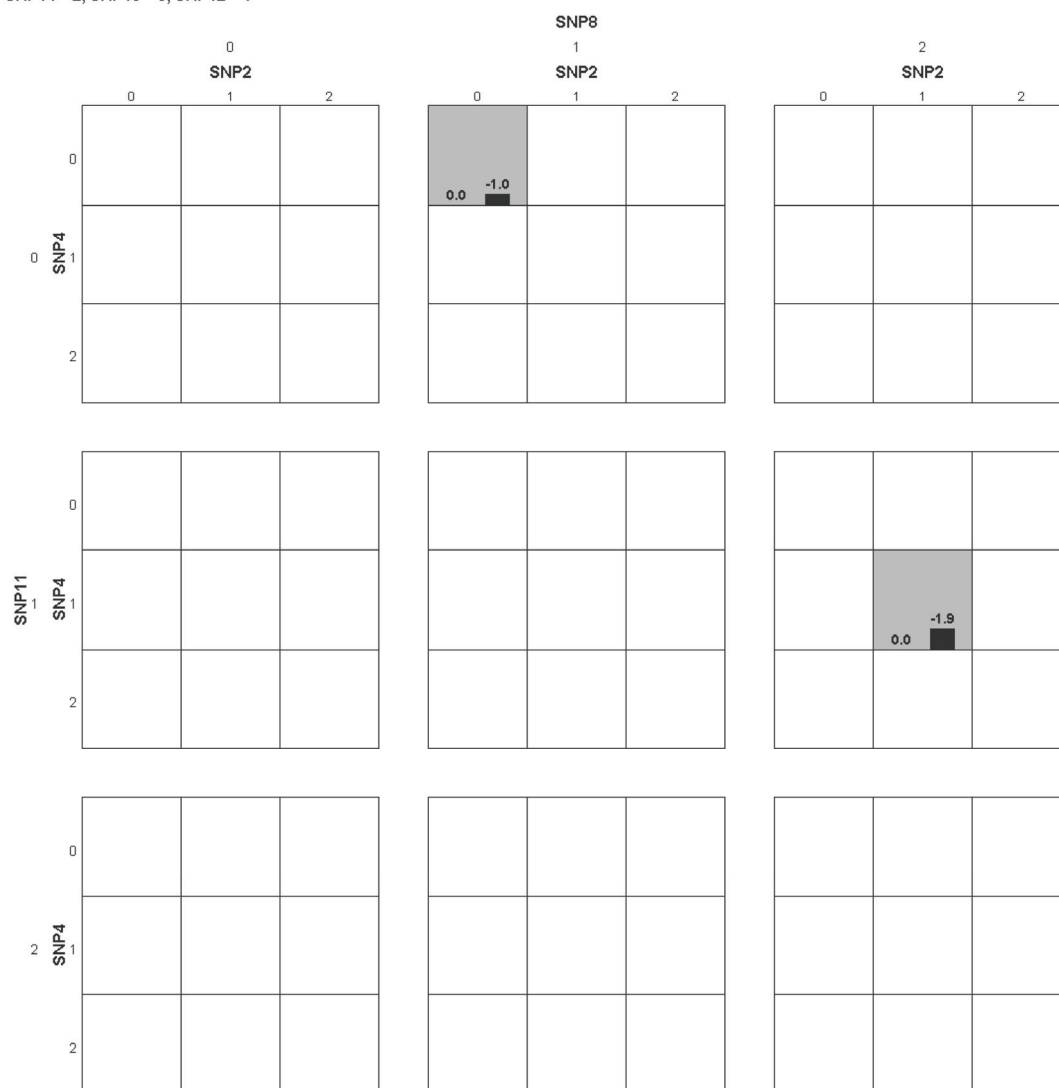


Figura A2.36. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 2, SNP13 = 0, SNP12 = 2

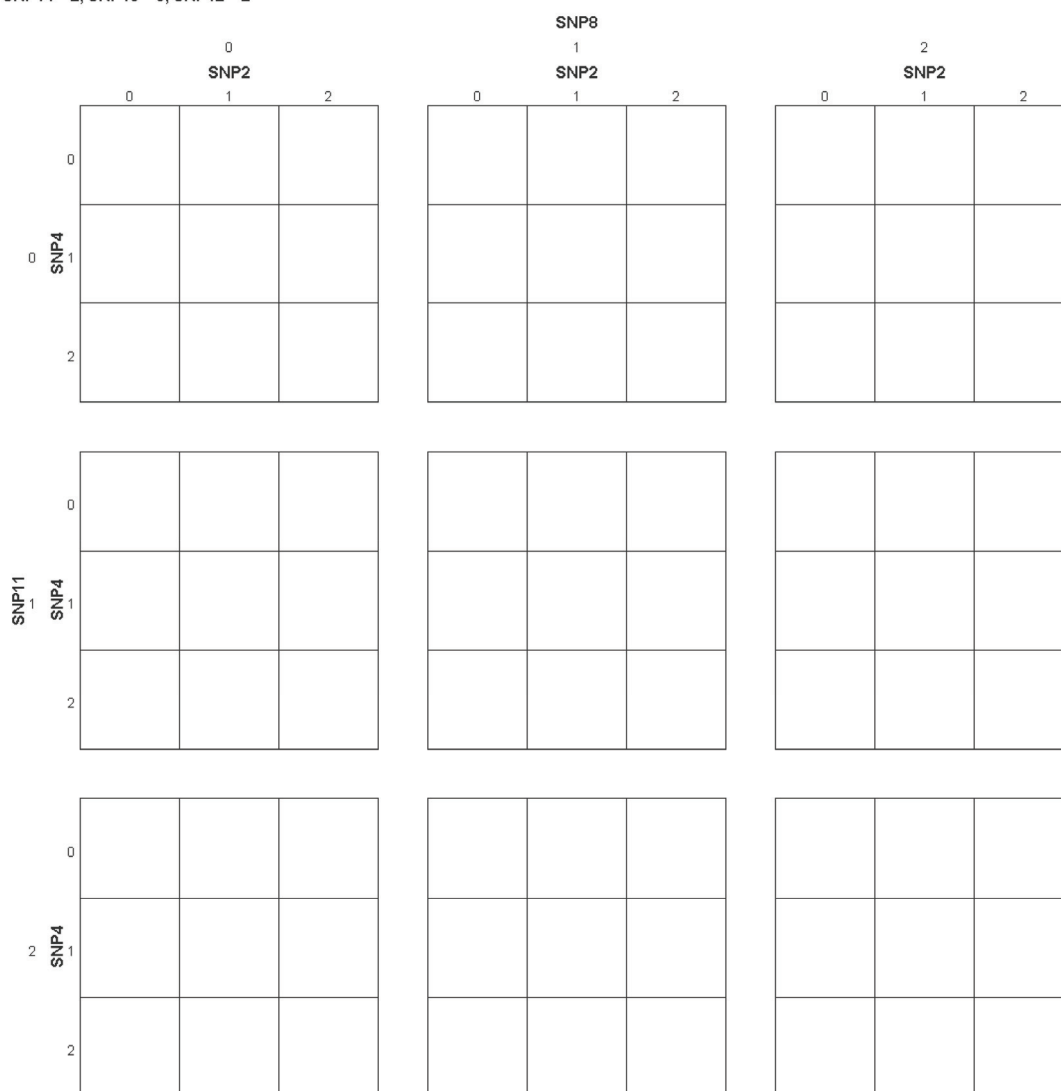


Figura A2.37. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 2, SNP13 = 1, SNP12 = 0

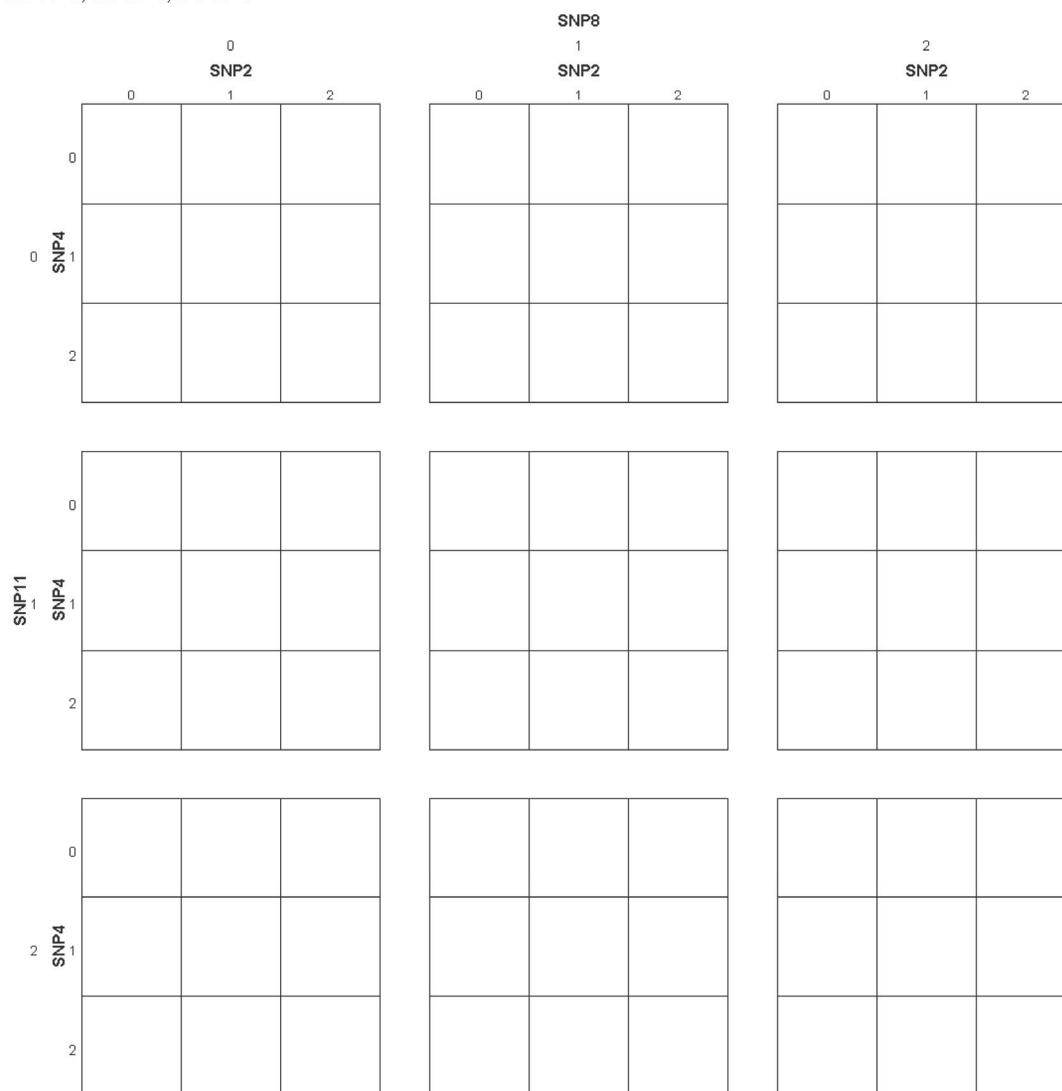
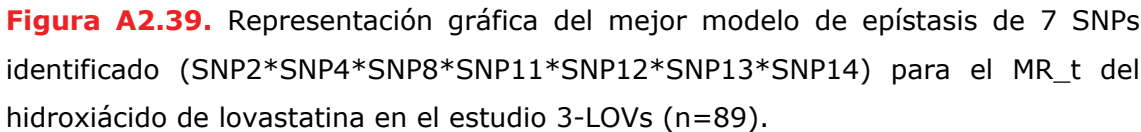


Figura A2.38. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.



Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 2, SNP13 = 1, SNP12 = 2

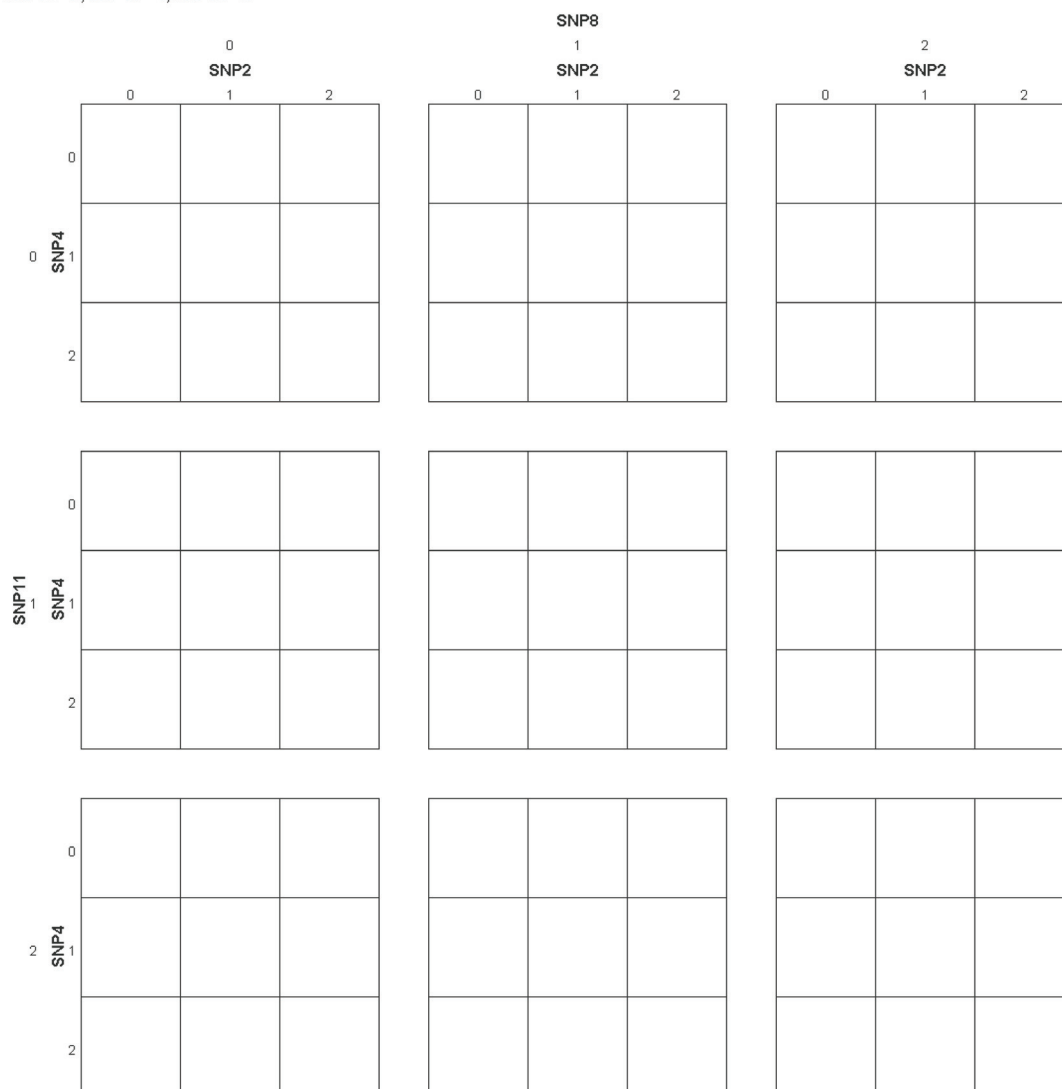


Figura A2.40. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 2, SNP13 = 2, SNP12 = 0

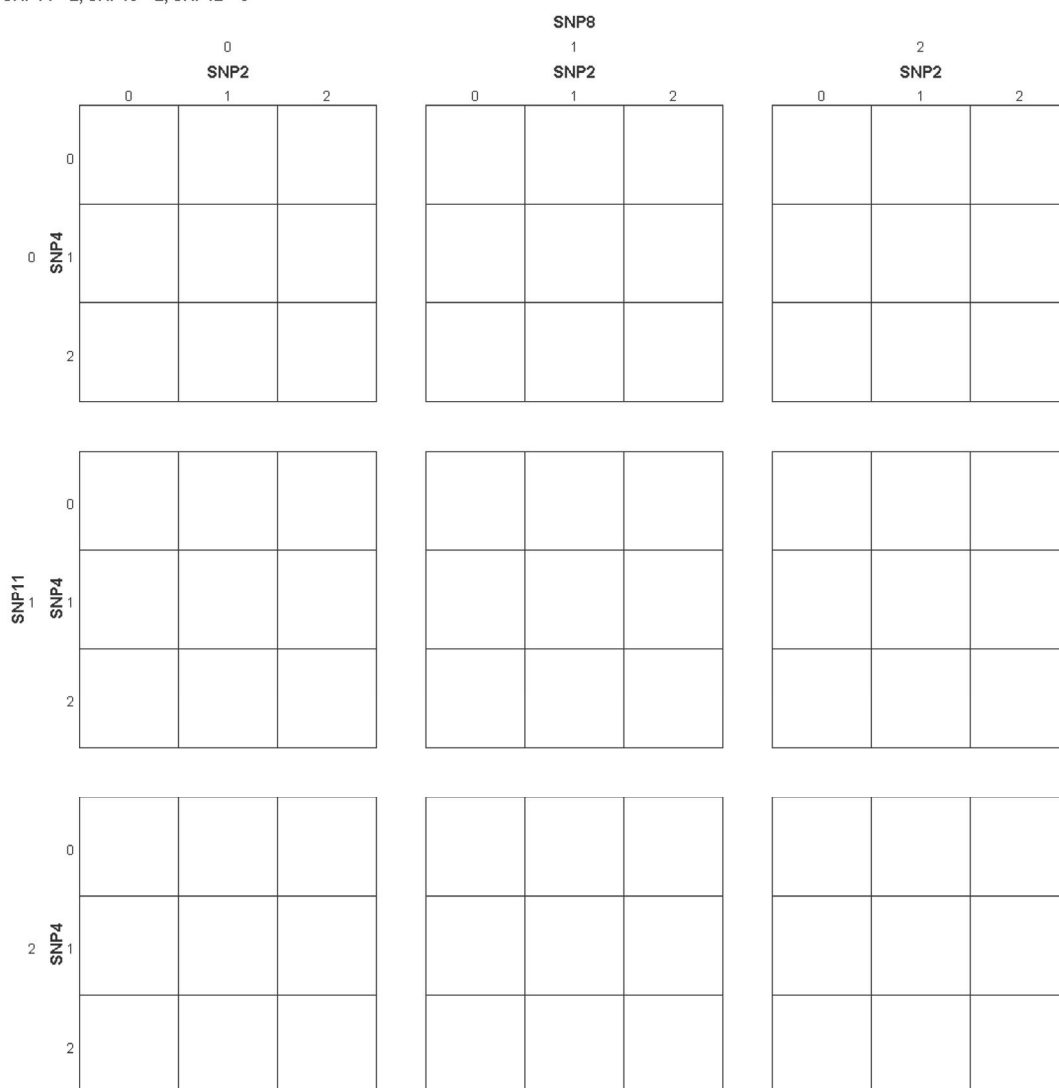


Figura A2.41. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del ácido hidroxilado de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 2, SNP13 = 2, SNP12 = 1

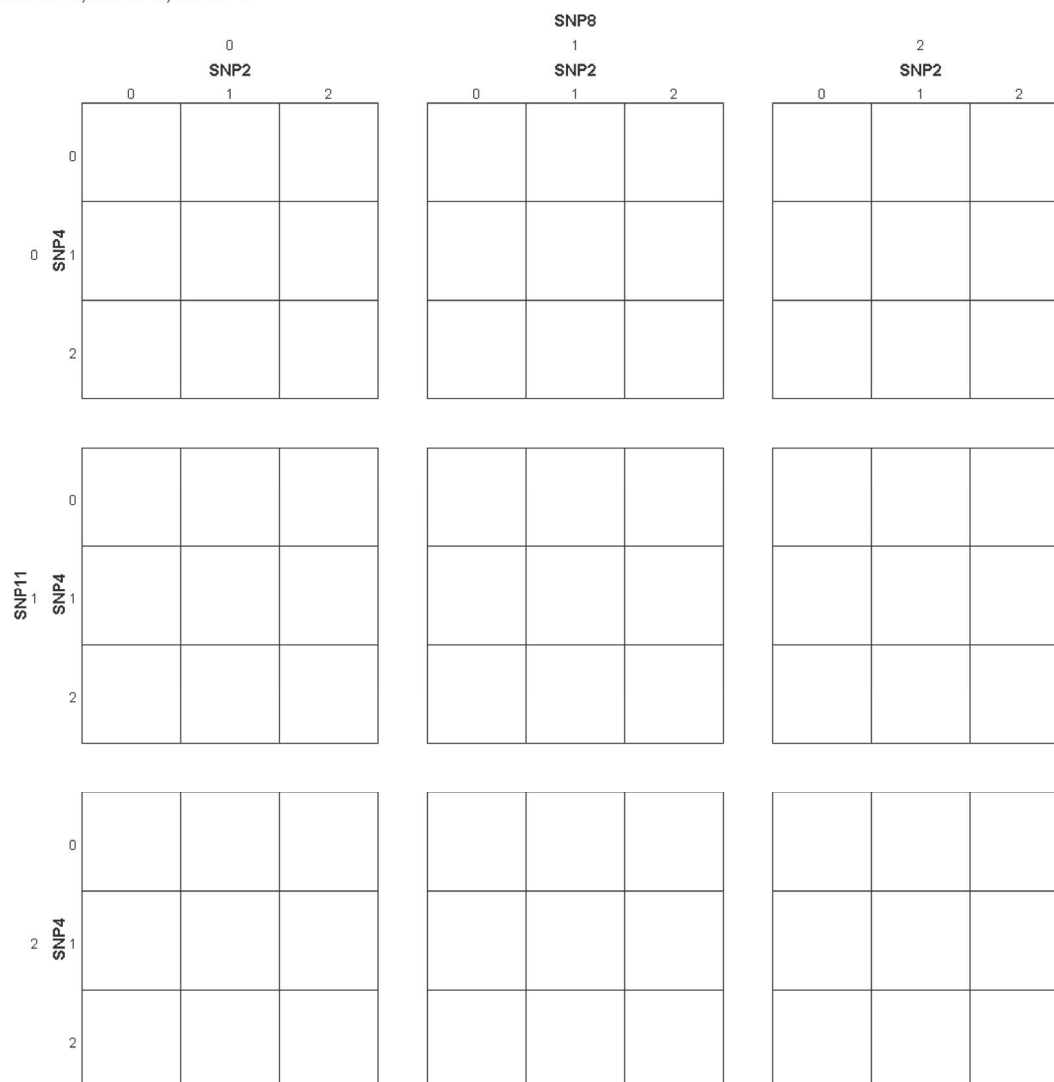


Figura A2.42. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los scores negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color *gris oscuro* representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color *gris claro* a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

SNP14 = 2, SNP13 = 2, SNP12 = 2

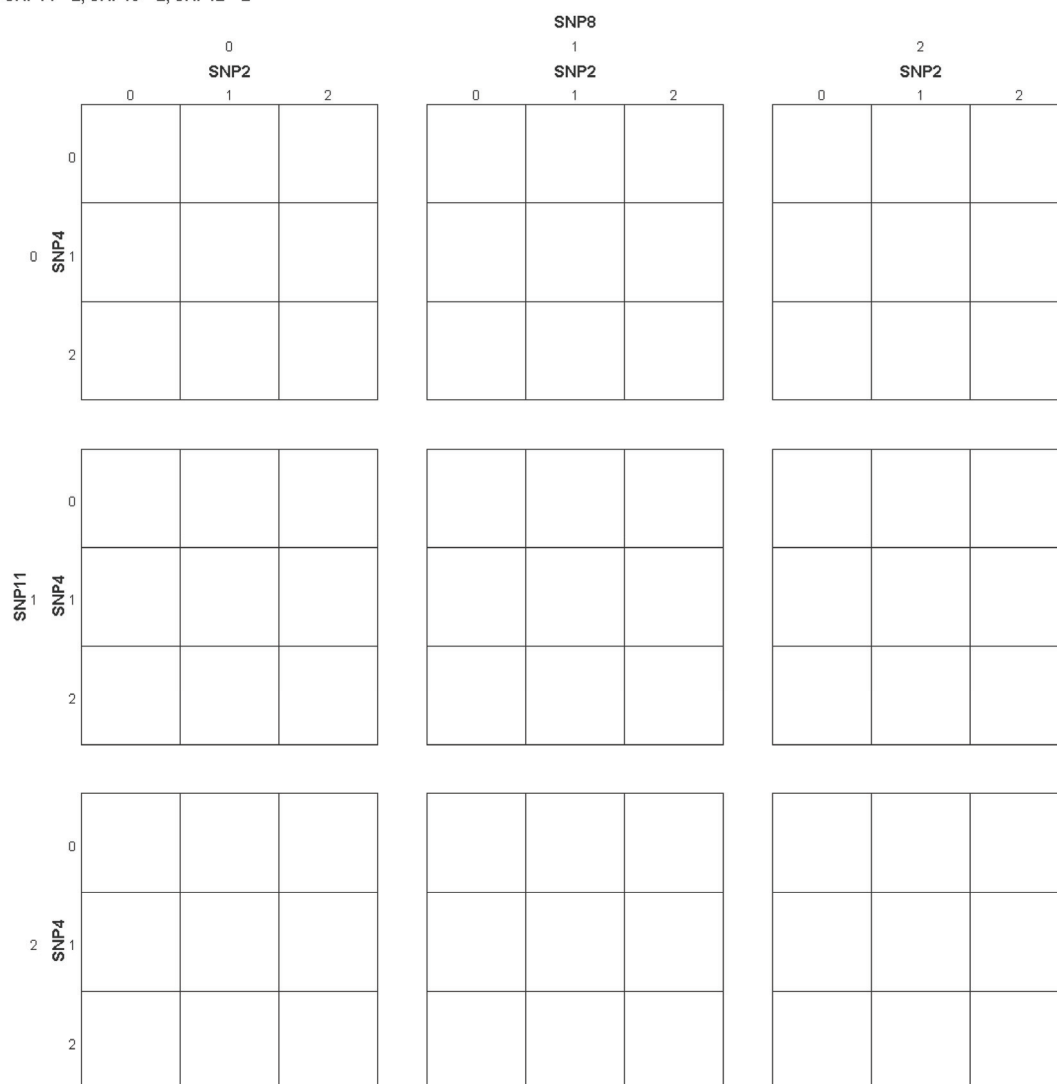
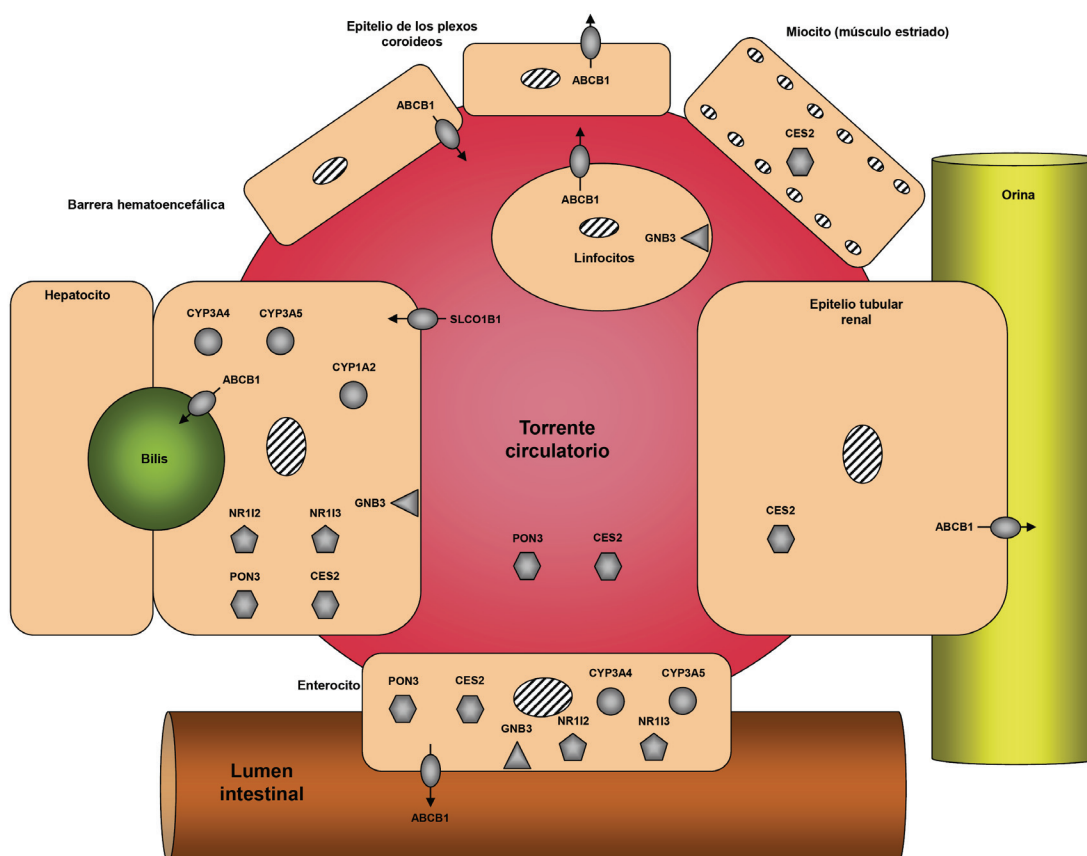


Figura A2.43. Representación gráfica del mejor modelo de epístasis de 7 SNPs identificado (SNP2*SNP4*SNP8*SNP11*SNP12*SNP13*SNP14) para el MR_t del hidroxiácido de lovastatina en el estudio 3-LOVs (n=89).

Cada casilla representa al fenotipo de los individuos que poseen la correspondiente combinación de genotipos de los SNPs incluidos en el modelo epistático. La barra de la derecha representa la suma de los *scores* negativos y la izquierda los positivos. El color de fondo de las casillas representa la asociación de la combinación genotípica con los valores dicotomizados del fenotipo. Las de color *gris oscuro* representan a valores fenotípicos altos y las de color *gris claro* a valores más bajos. En este caso, las de color gris oscuro representan a las combinaciones genotípicas asociadas a niveles más altos de MR_t y las de color gris claro a niveles más bajos. Las casillas de color *blanco* representan a las combinaciones de genotipos para las que no hay datos al no existir individuos portadores de la combinación genotípica. Para una representación más detallada de todas las combinaciones de genotipos la figura ha sido dividida en 27 partes.

Tabla A3.1. Resumen de los genes y sus polimorfismos investigados.

Genes	NR1I3			NR1I2			ABCB1		PON3	CYP3A5	GNB3	SLCO1B1	CYP1A2	CES2	
Alelos	T>G	C>T	C>T	C>T	A>C	T>C	C>T	C>T	A>G	A>G (*3)	C>T	A>G (*1b)	T>C (*5)	C>A (*1F)	C>T
Número rs (dbSNP)	rs4073054	rs2307424	rs2502815	rs3814055	rs3814057	rs3814058	rs2235048	rs1045642	rs10487132	rs776746	rs5443	rs2306283	rs4149056	rs762551	rs2241409
Identificador interno	SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	SNP7	SNP8	SNP9	SNP10	SNP11	SNP12	SNP13	SNP14	SNP15
Efecto funcional	?	?	?	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↑	↑	↓	↑	↓

**Figura A3.1.** Localización anatómica de los productos de los 10 genes cuyos polimorfismos fueron investigados.

